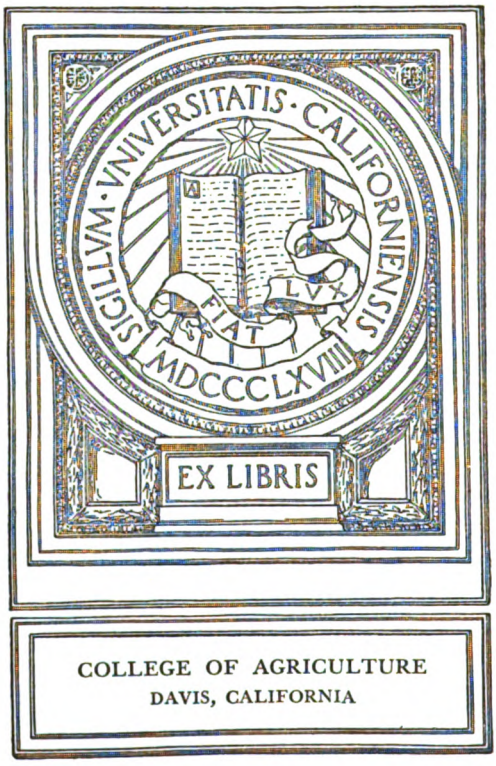
UC-NRLF
$B 650 587



COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA

PROF. DR. L. MICHAELIS

PROF. DR. L. MICHAELIS

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Breslau, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. E., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Pavia, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **Chr. Bohr**-Kopenhagen, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Brodig**-Zürich, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **R. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos-Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. von Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Prag, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Rechmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **Zd. H. Skraup**-Wien, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Siebenundzwanzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1910.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Embden, Gustav und **Joseph Wirth.** Über Hemmung der Acetessigsäurebildung in der Leber 1

Wirth, Joseph. Über den Abbau des Isoleucins in der Leber. . . . 20

Sachs, Fritz. Über den Chemismus des Leucinabbaues in Leber. . 27

Griesbach, Walter. Über Acetessigsäurebildung in der Leber diabetischer Hunde 34

Michaelis, Leonor und **Peter Rona.** Beiträge zur allgemeinen Eiweißchemie. I. 38

Starkenstein, Emil. Über den Glykogengehalt der Tunicaten nebst Versuchen über die Bedeutung des Eisens für die quantitative Glykogenbestimmung 53

Rinderspacher, Karl. Experimentelle Untersuchungen über einige Fehlerquellen bei der Darstellung eines antipankreatischen Serums 61

Kochmann, Martin. Zur Kenntnis des Kalkstoffwechsels unter Berücksichtigung des Stoffwechsels der Phosphorsäure und der Magnesia. Vorläufige Mitteilung 85

Friedmann, E. Zur Technik der Durchströmung überlebender Organe 87

Friedmann, E. und **C. Maase.** Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. IX. 97

Friedmann, E. und **C. Maase.** Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. X. 113

Friedmann, E. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XI. 119

Porges, Otto. Über den respiratorischen Quotienten nach Ausschaltung der Abdominalorgane 131

Porges, O. und **H. Salomon.** Über den respiratorischen Quotienten pankreasdiabetischer Hunde nach Ausschaltung der Abdominalorgane 143

Munschhauser, Hans. Welchen Einfluß übt die genaue Ermittlung der Wasserdampftension auf die Resultate der Respirationsversuche in dem von Zuntz und Oppenheimer modifizierten Regnault-Reiset-Apparate aus? 147

Braunstein, A. und **L. Kepinow.** Weitere Untersuchungen über das Wesen der Antitrypsinbildung im Organismus 170

Weiß, Moriz. Über den Neutralschwefel des Harnes und seine Beziehungen zur Diazoreaktion sowie zur Ausscheidung der Proteinsäuren 175

Berg, Ragnar. Über den Mechanismus der Beeinflussung der körperlichen Entwicklung durch die Wasserhärte 204

Fischer, H. W. Das negative Eisenhydroxyd. I. 223

Fischer, H. W. Das negative Eisenhydroxyd. II. 238

Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. VII. 246

61878

Seite

Neuberg, Carl. Beobachtungen an Jodproteinen 261
Neuberg, Carl. Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. III Übergang von Benzoesäure in Salicylsäure im Sonnenlicht. . . 271
Hasselbalch, K. A. und J. Lindhard. Eine neue Methode zur Bestimmung des Zuckers im Harn 273
Pauli, W. und R. Wagner. Die innere Reibung von Albuminlösungen 296
Loeb, Jacques. Über die Hemmung der zerstörenden Wirkung neutraler Salzlösungen auf das befruchtete Ei mittels Cyankalium 304
Fischer, H. W. und Erich Kuznitzky. Über negatives Eisenhydroxyd. III. 311
Kostytschew, S. Zur Richtigstellung 326
Neuberg, Carl und Else Hirschberg. Abbauversuche in der Kohlenhydratreihe 327
Neuberg, Carl und Else Hirschberg. Über die α-Naphthylisocyanatverbindungen einiger physiologisch wichtigen Substanzen 339
Rona, P. Notiz zur Kreatininbestimmung 348
Wohl, A. und E. Glimm. Zur Kenntnis der Amylase (Diastase) . . 349
Mayerhofer, Ernst und Ernst Stein. Über den Einfluß von Zucker auf die Permeabilität tierischer Darmmembranen 376
Hirata, Goichi. Über die Mengenverhältnisse der Diastase in den einzelnen Organen verschiedener Tierarten 385
Hirata, Goichi. Über die Beziehungen zwischen dem Antitrypsingehalt des Blutes und dem des Urins 397
Caspari, W. und A. Loewy. Über den Einfluß gesteigerter Körpertemperatur auf das Verhalten der Blutgase 405
Buchner, Eduard und Hugo Haehn. Studien über den Phosphorgehalt der Hefe und einiger Hefepräparate 418
Kondo, Kenro. Zur Kenntnis des Essigätherextraktes der Organe und seines Verhaltens bei der Autolyse. IV. 427
Kondo, Kenro. Zur Kenntnis des Essigätherextraktes der Organe und seines Verhaltens bei der Autolyse. V. 436
Palladin, W. Synergin, das Prochromogen des Atmungspigments der Weizenkeime 442
Zaleski, W. und A. Reinhard. Zur Frage der Wirkung der Salze auf die Atmung der Pflanzen und auf die Atmungsenzyme 450
Friedmann, E. und C. Maase. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XII. 474
Friedmann, E. und S. Gutmann. Über die N-Methylderivate des Phenylalanins und des Tyrosins 491
Moruzzi, Giovanni. Wirkung der Säuren und der Alkalien auf das künstliche hämolytische Kaninchen-Anti-Rinderserum 498
Quagliariello, G. Über die Imbibition der Darmschleimhaut mit NaCl- und Na_2SO_4-Lösungen verschiedener Konzentrationen 516
Wolf, C. G. L. und Mc. Kim Marriot. Berichtigung 530
Autorenverzeichnis 531

Über Hemmung der Acetessigsäurebildung in der Leber.

Von

Gustav Embden und Joseph Wirth.[1])

(Aus dem städt. chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 7. Juni 1910.)

In früher veröffentlichten Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die lebensfrische Leber von Hunden bei der Durchströmung mit Hunde- oder Rinderblut ohne weiteren Zusatz Acetessigsäure und daneben auch geringe Mengen Aceton bildet. Unter bestimmten leicht einzuhaltenden Versuchsbedingungen schwankt die Menge des gebildeten Gesamtacetons[2]) nur innerhalb enger Grenzen. Sie betrug unter eben diesen Bedingungen 12 bis 27 mg pro Liter des angewendeten Blutes. Weit beträchtlicher war die Acetonbildung, wenn bestimmte, ihrer Struktur nach wohlbekannte Substanzen dem Durchblutungsblute zugefügt wurden, und aus den näheren Umständen der Versuche ging mit Sicherheit hervor, daß eben diese zugesetzten Substanzen die Quelle für die Acetessigsäure bildeten. Wir müssen bezüglich der näheren Natur dieser Substanzen auf die früher veröffentlichen Arbeiten verweisen, wollen aber hier nur daran erinnern, daß diese Substanzen recht verschiedenartiger Natur waren, teils aliphatische Fettsäuren mit normaler oder verzweigter Kette, teils aliphatische oder aromatische Aminosäuren [Leucin, Isoleucin[3]), Tyrosin, Phenylalanin]. Ebenso

[1]) Die wesentlichsten Ergebnisse der dieser und der folgenden Arbeit von Griesbach zugrunde liegenden Untersuchungen wurden in Kürze bereits auf dem Kongreß f. inn. Med. 1909 mitgeteilt.

[2]) Gesamtaceton = präformiertes Aceton + Aceton aus Acetessigsäure. Embden und Schliep, Centralbl. f. d. ges. Phys. u. Pathol. des Stoffwechsels 1907, Nr. 7 u. 8.

[3]) J. Wirth, Über den Abbau des Isoleucins in der Leber. Diese Zeitschr. 27, *20*, 1910.

wurden eine größere Anzahl mit den eben erwähnten mehr oder weniger verwandter Substanzen als Acetessigsäure bildend erkannt. So z. B. als chemischer Abkömmling des Leucins die Leucinsäure[1]) in ihrer natürlichen und racemischen Form; ferner das Isoamylamin und der Isovaleraldehyd. Von aromatischen Substanzen erwiesen sich diejenigen als Acetessigsäure bildend, deren Ring im normalen Organismus leicht vollständig verbrannt wird und die im Körper des Alkaptonurikers in Homogentisinsäure übergehen. Ebenso wurde auch die Homogentisinsäure selbst unter Acetessigsäurebildung abgebaut. Die bei Abbau der ebengenannten aromatischen Substanzen gebildete Acetessigsäure war zweifellos aufzufassen als ein Spaltungsprodukt des aromatischen Kerns.

Man sieht aus dem eben Erwähnten, daß die Acetessigsäure als Abbauprodukt sehr verschiedenartiger Substanzen im Tierkörper auftreten kann, und wir halten es für sicher, daß sie im normalen intermediären Stoffwechsel tatsächlich in großer Menge auftritt, wofür auch ihre überaus leichte Angreifbarkeit durch lebensfrische Organe, insbesondere auch durch die lebensfrische Leber spricht.

Wir wollen auf ein weiteres Eingehen auf die früheren Versuche verzichten und an dieser Stelle nur noch erwähnen, daß die Fähigkeit der Acetessigsäurebildung anscheinend ausschließlich der Leber zukommt. Versuche mit anderen Organen fielen völlig negativ aus.[2])

In mancher Beziehung brachten die eben erwähnten Versuche über Acetessigsäure- und Acetonbildung in der isolierten, künstlich durchbluteten Leber wohl Aufklärung über die Quellen der Acetonbildung, wie namentlich über die Schicksale der Fettsäuren und Aminosäuren im Organismus. Doch kann auch auf die theoretischen Schlußfolgerungen der früheren Versuche nicht nochmals eingegangen werden.

[1]) Fr. Sachs, Über den Chemismus des Leucinabbaues in der Leber. Diese Zeitschr. 27, 27, 1910.

[2]) Embden und Kalberlah, Über Acetonbildung in der Leber. Beiträge z. chem. Phys. u. Pathol. 8, 126, 1906. Es ist schwer verständlich, daß Abderhalden in der letzten Auflage seines „Lehrbuchs der physiologischen Chemie", 1909, S. 124ff. schreibt: „Wir müssen es vorläufig unentschieden lassen, aus welcher Quelle, oder, vielmehr korrekter ausgedrückt, aus welchen Quellen die Acetonkörper herstammen. Ebensowenig wissen wir etwas über ihre Bildungsstätte."

Es soll uns vielmehr hier nur eine Frage beschäftigen, die in den bisherigen Versuchen vollkommen unberücksichtigt blieb, die Frage nämlich, warum einerseits unter pathologischen Verhältnissen, wie beim Diabetes mellitus, im Fieber, bei Kachexie, andererseits auch beim normalen Menschen unter gewissen abnormen Ernährungsbedingungen, wie z. B. ausschließlicher Beköstigung mit Fleisch und Fett oder bei voller Karenz, Acetonkörper auftreten.

So verschiedenartig die begleitenden Umstände sein mögen, die die Acetonkörperausscheidung bedingen, so ist doch eines allen Formen der Acetonurie gemeinsam: eine einseitige Ernährung. Ob bei der einseitigen Ernährung mit Fleisch und Fett oder bei Hunger keine Kohlenhydrate zugeführt werden, oder ob, wie beim Diabetes mellitus, die Kohlenhydrate nicht oder nicht vollständig verbrannt werden, das läuft für den Cellularstoffwechsel, insbesondere für den der Leber, am Ende auf dasselbe hinaus.

Eine solche einseitige Ernährung der Leberzellen hatte auch in den früheren Versuchen, in denen bestimmte, Acetessigsäure bildende Substanzen dem Durchblutungsblut zugeführt wurden, stattgefunden.

In dem einen Falle wurde z. B. ihnen nur das bei seinem Abbau Aceton bildende Tyrosin, im anderen Falle irgend eine andere in der isolierten Leber verbrennliche, Acetessigsäure bildende oder nicht bildende Substanz geboten.

Wir versuchten nun, ob es gelingt, ähnlich wie bei der Ernährung des Gesamtorganismus, durch eine bestimmte Mischung der Nahrungssubstanzen auch in der isolierten Leber noch die Acetessigsäurebildung hintenan zu halten.

Im einzelnen suchten wir bei der Ausführung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche möglichst dieselben Versuchsbedingungen wie früher einzuhalten.

Insbesondere verwendeten wir auch jetzt mit einigen, weiter unten zu schildernden Ausnahmen ausschließlich Hunde, die nach vorhergegangener gemischter Fütterung 24 Stunden gehungert hatten. Auch bezüglich des Gewichts[1]) der ver-

[1]) Mit Unrecht hebt Magnus-Levy in seiner Arbeit: „Die Acetonkörper" (Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 1, S. 392) hervor, daß Embden in seinen früheren Arbeiten die Größe der Hunde nicht angibt.

wendeten Hunde, der Art ihrer Tötung und der Ausführung der künstlichen Durchblutung wurde wie früher verfahren. Nur in einigen späteren Versuchen wandten wir statt des früheren, ziemlich mühsam zu bedienenden Durchblutungsapparates, den automatisch tätigen Apparat von Mandel[1]) an. Selbstverständlich überzeugten wir uns vorher, daß man bei Anwendung dieses Apparates, trotz der meist größeren Strömungsgeschwindigkeit dieselben Werte bei der Durchblutung der Leber mit Rinderblut ohne Zusatz erhält, wie mit dem früheren Apparat. Es geht dies aus Tabelle A hervor.

Tabelle A.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
a	200			ohne Zusatz	23	
b	130	1600	60	„	29	
c	105	1600	60	„	15	
d	260	1600	60	„	27	

Bezüglich der Ausführung der Bestimmung des Gesamtacetons können wir uns ganz auf die früheren Mitteilungen und auf die von Embden und Schmitz in dem Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden von Abderhalden[2]) angegebene Methodik beziehen. Ausnahmslos haben wir auch bei unseren Versuchen die Bestimmung des Gesamtacetons nicht nur mit dem Blute nach der Durchblutung, sondern auch mit dem Blute vor der Durchblutung ausgeführt. Die neugebildete Acetonmenge wurde aus der Differenz der beiden Werte berechnet.

In der Arbeit von Embden und Kalberlah (l. c.) S. 122 und in der von Embden, Salomon und Schmidt (l. c.) S. 130 ist gesagt, daß kleine oder mittelgroße Hunde von etwa 6 bis 9 kg Körpergewicht zur Verwendung kamen.

[1]) F. Mandel, Ein neuer Apparat zur Durchblutung lebender Organe. Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik 1, 1908.

[2]) Embden und Schmitz, Nachweis, Bestimmung und Isolierung von Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure. Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 3, 906, 1910.

Trotzdem, wie aus einer früheren Mitteilung von Embden und Engel[1]) hervorgeht, bei der Durchströmung der Leber ganz vorwiegend Acetessigsäure und in weitaus geringeren Mengen Aceton auftritt, haben wir auch in dieser Arbeit alle Werte auf Aceton berechnet, schon um einen unmittelbaren Vergleich mit den früheren Versuchen zu ermöglichen.

Die Versuchsdauer betrug stets mit einigen wenigen, durch technische Störung bedingten Ausnahmen 60 Minuten, während wir bei den früheren Versuchen größtenteils eine Versuchszeit von 75 Minuten anwendeten. Ein praktisch in Betracht kommender Unterschied in den Ergebnissen wird, wie wir uns des öfteren überzeugten, hierdurch nicht verursacht.

Genau wie in den früheren Versuchen wurden die dem Durchblutungsblut zuzusetzenden Säuren mit Ammoniak neutralisiert, und zwar wurde so viel Ammoniak hinzugefügt, daß blaues Lackmuspapier eben nicht mehr gerötet wurde. Leicht lösliche Substanzen wurden, ebenfalls wie früher, in geringen Mengen Wasser gelöst, schwer lösliche in größeren Mengen Kochsalzlösungen von 0,85%. Daß der Zusatz von Kochsalzlösung an sich ohne Einfluß auf den Umfang der Acetessigsäurebildung ist, wurde bereits früher von Embden, Salomon und Schmidt[2]) festgestellt.

Wir haben unsere Versuche an einer größeren Anzahl Acetessigsäure bildender Substanzen vorgenommen. Auch die entsprechend den oben gemachten Ausführungen gleichzeitig mit diesen zugesetzten, nicht Acetessigsäure bildenden Substanzen waren verschiedener Art.

Die erste Acetessigsäure bildende Substanz, die wir prüften, war die Isovaleriansäure. In den Versuchen von Embden, Salomon und Schmidt[3]) hatte diese Substanz in zwei Versuchen je 73 mg Aceton pro Liter gebildet, in den Versuchen von Embden und Engel[4]) 63 und 71 mg Aceton pro Liter. Ganz ähnlich waren die Werte, die wir in drei weiteren Versuchen

---

[1]) Embden und Engel, Über Acetessigsäurebildung in der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 1908.

[2]) Embden, Salomon und Schmidt, Quellen des Acetons. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 136, 1906.

[3]) l. c., S. 140, Versuch 19 und 20.

[4]) Embden und Engel, l. c., S. 325, Versuch 4 und 5.

erhielten. In zwei dieser Versuche wandten wir wie früher 2 g, in dem dritten 3 g Isovaleriansäure an. Die erhaltenen Werte betrugen:

71, 62, 60 mg pro Liter (s. Tab. I).

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
1	192	1600	60	2 g Isovaleriansäure	71	
2	180	1600	60	2 g „	62	
3	230	1600	60	3 g „	60	200 g Leber wurden abgebunden und nicht durchblutet (vgl. S. 17)

Die bei Durchströmung mit 2 g Isovaleriansäure unter Anwendung von normalgroßen[1]) Lebern früher und jetzt gewonnenen Ergebnisse schwanken also nur zwischen 60 und 73 mg Aceton pro Liter des Durchblutungsblutes.

Ganz anders wurden die Ergebnisse, als wir gleichzeitig mit der Isovaleriansäure dem Durchblutungsblute Normalvaleriansäure hinzufügten.

Von der n-Valeriansäure war durch Embden und Marx[2]) festgestellt worden, daß sie nicht Acetessigsäure bildet; ihre Verbrennlichkeit in der isolierten Leber war aber wegen ihrer chemischen Stellung zwischen ihrem nächst niederen Homologon, der Acetessigsäure bildenden n-Buttersäure, und dem ebenfalls Acetessigsäure bildenden nächsthöheren Homologon, der n-Capronsäure, in hohem Maße wahrscheinlich. Die Resultate der gleichzeitigen Durchströmung mit Isovaleriansäure und n-Valeriansäure sind in Tabelle II niedergelegt.

In allen Versuchen kamen von der Isovaleriansäure je 2 g zur Verwendung, von der n-Valeriansäure in den Versuchen 4 bis 6 je 6 g, in Versuch 7 nur 2 g.

---

[1]) Siehe hierüber weiter unten S. 17.

[2]) Embden und Marx, Über Acetonbildung in der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 319, Versuch 3 und 4.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugesetzte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
4	etwa 135	1600	60	2 g Isovaleriansäure 6 „ n-Valeriansäure	31	
5	150	1400	60	Dasselbe	26	
6	215	1600	60	Dasselbe	27	
7	92	1600	60	2 „ Isovaleriansäure 2 „ n-Valeriansäure	32	

Wie man aus der Spalte 6 der Tabelle II ersieht, schwankten in den vier Versuchen die Mengen des gebildeten Acetons zwischen 26 und 32 mg; sie waren also kaum größer als die früher von Embden und Kalberlah bei der Durchströmung der Leber mit Blut ohne Zusatz gewonnenen maximalen Normalwerte (27 mg pro Liter).

Durch die Anwesenheit von n-Valeriansäure war also die Acetessigsäurebildung aus Isovaleriansäure völlig oder fast völlig gehemmt.

Stärker als Isovaleriansäure bildete in früheren Versuchen n-Capronsäure Acetessigsäure, nämlich in zwei von Embden und Marx[1]) ausgeführten Versuchen 89 und 111 mg Aceton pro Liter des angewendeten Durchblutungsblutes. Wir stellten zwei Versuche an, in denen wir dem Durchblutungsblute je 2 g n-Capronsäure und etwas über 6 g n-Valeriansäure zusetzten (s. Tab. III, Versuche 8 und 9). Die Acetonbildung pro Liter betrug 30 und 38 mg. Also hatte die n-Valeriansäure die Acetessigsäurebildung auch aus dieser Substanz völlig (Versuch 8) oder nahezu völlig (Versuch 9) verhindert. Es ist allerdings darauf hinzuweisen, daß der Versuch 9 wegen einer eingetretenen technischen Störung nur 45 Minuten dauerte, der gewonnene Acetonwert also etwas zu niedrig erscheint.

Als ein ebenfalls kräftiger Acetessigsäurebildner hatte sich in früheren Versuchen das Tyrosin erwiesen. In zwei Versuchen von Embden, Salomon und Schmidt[2]) betrug die

[1]) Embden und Marx, l. c., S. 319, Tabelle I, Versuch 5 und 6.

[2]) l. c., S. 149, Tabelle X, Versuch 33 und 34.

Acetonbildung pro Liter des Durchblutungsblutes bei Anwendung von 2,5 g bis 3,0 g Tyrosin 104 bzw. 68 mg.

Tabelle III.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
8	87	1600	60	2 g n-Capronsäure 6,3 g n-Valeriansäure	30	
9	185	1600	45	2 g n-Capronsäure 6,1 g n-Valeriansäure	38	Arterialisierung in den letzten 15 Min. mangelhaft

In einem weiteren von Embden und Engel[1]) ausgeführten Versuche mit 2 g Tyrosin wurden 93 mg Aceton pro Liter erhalten. In bisher unveröffentlichten Versuchen konnte Fräulein Dr. Philippson zeigen, daß ganz ähnliche Werte für die Acetonbildung bereits durch Zusatz von 0,5 g l-Tyrosin erreicht werden, während bei Anwendung geringerer Mengen die Acetonbildung merklich herunter geht. In der Tabelle IV sind vier Versuche aufgeführt, die wir unter gleichzeitigem Zusatz von 0,5 g l-Tyrosin und 4 g (Versuch 10 und 13) bzw. 6 g (Versuch 11 und 12) n-Valeriansäure ausführten.

Tabelle IV.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
10	257	1600	60	0,5 g l-Tyrosin 4 g n-Valeriansäure	28	+200 ccm 0,85%ige Kochsalzlsg.
11	175	1600	60	0,5 g l-Tyrosin 6 g n-Valeriansäure	41	+150 ccm 0,85%ige Kochsalzlsg.
12	101	1450	60	0,5 g l Tyrosin 6 g n-Valeriansäure	40	+150 ccm 0,85%ige Kochsalzlsg.
13	153	1600	60	0,5 g l-Tyrosin 4 g n-Valeriansäure	74	

[1]) l. c., S. 325, Versuch 8.

In Versuch 10 ist eine totale Hemmung der Acetessigsäurebildung aus Tyrosin eingetreten (Acetonbildung pro Liter28 mg), in den Versuchen 11 und 12 ist die Hemmung unvollständig (41 bzw. 40 mg Aceton pro Liter) während in Versuch 13 (Acetonbildung 74 mg pro Liter), eine merkliche Hemmung nicht eingetreten ist. Worauf das abweichende Ergebnis dieses Versuchs beruht, entzieht sich einstweilen unserer Beurteilung.

Wir haben bisher ausschließlich solche Versuche angeführt, in denen wir eine hemmende Wirkung auf die Acetessigsäurebildung aus verschiedenen Acetessigsäure bildenden Substanzen durch n-Valeriansäure erreichten und gehen jetzt zu jenen Versuchen über, in denen wir andere Substanzen auf die in Frage kommende hemmende Wirkung prüften. In sechs früher von Embden[1]) veröffentlichten Versuchen betrug die Acetonbildung aus je 2 g dl-Leucin 70, 88, 46, 56, 55, 82 mg pro Liter. In drei in Tabelle V wiedergegebenen Versuchen wurden außer je 2 g dl-Leucin 4 g der nicht Acetessigsäure bildenden α-Amino-n-capronsäure hinzugefügt (Versuch 14 bis 16).

Tabelle V.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
						Arterialisierung 10 Minuten lang schlecht
14	200	1600	60	2 g dl-Leucin 4 g α-Amino-n-Capronsäure	29	+ 300 ccm 0,85 %ige Kochsalzlösg.
15	317	1600	60	2 g α-Amino-n-Capronsäure 4 g α-Amino-n-Capronsäure	44	+ 250 ccm 0,85 %ige Kochsalzlösg.
16	145	1600	60	2 g α-Amino-n-Capronsäure 4 g α-Amino-n-Capronsäure	49	+ 200 ccm 0,85 %ige Kochsalzlösg.
17	205	1600	60	0,5 g Tyrosin 4 g α-Amino-n-Capronsäure	90,5	

[1]) Embden, Über das Verhalten der optisch-isomeren Leucine in der Leber. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, S. 351, Tabelle II, Versuch 7 bis 12.

In Versuch 14 war die Hemmung der Acetessigsäurebildung aus dl-Leucin eine fast totale (29 mg Aceton pro Liter). In Versuch 15 und 16 ist sie immerhin deutlich erkennbar (44 und 49 mg pro Liter).

Zusatz von 4 g α-Amino-n-capronsäure zu 0,5 g Tyrosin vermochte die Acetessigsäurebildung aus letzterer Substanz nicht zu hemmen (Versuch 17).

Eine deutliche Hemmungswirkung beobachteten wir ferner, als wir die Durchblutung unter gleichzeitigem Zusatz von 2 g n-Capronsäure und 6 g der nach früheren Versuchen von Embden, Salomon und Schmidt[1]) nicht Acetessigsäure bildenden Isobutylessigsäure vornahmen (Tab. VI, Versuch 18). Acetonbildung 45 mg pro Liter, während bei gleichzeitiger Durchströmung mit 2 g n-Capronsäure und 4,1 g Isobutylessigsäure eine Hemmungswirkung kaum (Versuch 19, Acetonbildung 67 mg pro Liter) erkennbar war und schließlich Zusatz von 2 g Isobutylessigsäure die Acetessigsäurebildung aus 2 g n-Capronsäure nicht merklich beeinflußte (Versuch 20).

Tabelle VI.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
18	225	1600	60	2 g n-Capronsäure 6 „ Isobutylessigsäure	45	
19	235	1600	60	2 g n-Capronsäure 4,1 „ Isobutylessigsäure	67	
20	236	1600	60	2 „ n-Capronsäure 2 „ Isobutylessigsäure	80	

Wir haben bisher gesehen, daß verschiedene in der isolierten Leber nicht Acetessigsäure bildende Substanzen, nämlich Valeriansäure, α-Amino-n-capronsäure und Isobutylessigsäure unter geeigneten Versuchsbedingungen die Acet-

[1]) l. c., Tab. V, Versuch 17 und 18.

essigsäurebildung aus verschiedenen Substanzen, wie Isovaleriansäure, n-Capronsäure, d,l-Leucin und l-Tyrosin[1]) mehr oder weniger vollständig zu hemmen vermögen.

In welcher Weise kommt nun diese Hemmung zustande? Man könnte vielleicht daran denken, daß die genannten Substanzen irgendwie toxisch auf die Leberzellen einwirken in der Art, daß das Oxydationsvermögen der letzteren vermindert wird und sie deswegen das ihnen zugeführte Acetessigsäure bildende Material nicht oder doch weniger energisch angreifen können. Dieser Gedanke konnte von vornherein um so mehr berechtigt erscheinen, als in den Hemmungsversuchen zum Teil mit recht großen Mengen von Fettsäuren die Leber durchblutet wurde. Aus den Versuchen 21 und 22 der Tabelle VII geht freilich hervor, daß die Acetessigsäurebildung bei alleinigem Zusatz von 8 g n-Capronsäure dieselben oder nahezu dieselben Werte erreicht wie bei der Durchblutung mit 2 g dieser Substanz, nämlich in Versuch 21 98 mg, in Versuch 22 66 mg Aceton pro Liter. Aber natürlich könnte sich n-Valeriansäure in der durchbluteten Leber in dieser Hinsicht anders verhalten als n-Capronsäure.

Tabelle VII.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
21	290	1600	60	8 g n-Capronsäure	98	
22	255	1600	60	8 „ „	66	

Daß es sich aber in der Tat bei der beobachteten Hemmung der Acetessigsäurebildung nicht um eine toxische Wirkung auf die Leberzellen handelt, geht, wie wir glauben, mit Sicherheit einerseits daraus hervor, daß der Umfang der normalen Acetessigsäurebildung in der Leber durch Zusatz von 2 g n-Valeriansäure nicht herabgedrückt wird [vgl. Embden und Marx[2])], und andererseits, daß es eine Art gesteigerter

[1]) Auf Tyrosin wirkte α-Amino-n-capronsäure nicht.

[2]) l. c., S. 319, Tab. I, Vers. 3 und 4.

Acetessigsäurebildung in der Leber gibt, die in keiner Weise durch die in unseren Versuchen am stärksten hemmende Substanz — eben die n-Valeriansäure — beeinflußt wird. Es ist dies die von Embden und Lattes[1]) beschriebene vermehrte Acetessigsäurebildung, die bei der Durchströmung der Leber phlorizinvergifteter oder pankreasloser Hunde auch ohne jeden Acetessigsäure bildenden Zusatz sich bemerkbar macht und auf die, wie aus der dieser folgenden Arbeit von Griesbach[2]) hervorgeht, der Zusatz von n-Valeriansäure nicht hemmend einwirkt. Wenn es sich um eine Giftwirkung auf die Leberzelle handelte, so müßte diese sich natürlich ebenso gut an der diabetischen wie an der normalen Leber geltend machen.

Den Ausgangspunkt unserer Versuche bildete, wie oben erwähnt, die Überlegung, daß im Gesamtorganismus dann Acidosis einzutreten pflegt, wenn die Ernährung eine einseitige ist. In der menschlichen Pathologie ist fast ausnahmslos Kohlenhydratmangel als Ursache der Acetonkörperausscheidung anzusehen. Es schien uns von vornherein sehr möglich, daß bei ausreichender Kohlenhydratzufuhr die Ausscheidung von Acetonkörpern deswegen ausbleibt, weil neben den im Organismus bei ihrer Verbrennung Acetessigsäure bildenden Substanzen die nicht Acetessigsäure bildenden Kohlenhydrate gleichsam konkurrierend verbrennen, so daß der Stoffwechsel zu einem geringeren Anteile auf Kosten Acetessigsäure bildender Substanzen erfolgt. Der Abbau dieser letzteren Substanzen wird also derart verlangsamt, daß die bei diesem Abbau intermediär auftretende Acetessigsäure vom Organismus völlig in Kohlensäure und Wasser übergeführt werden kann. Es wird also nach der eben entwickelten Anschauung bei ausreichender Kohlenhydratzufuhr die Assimilationsgrenze des Organismus für die von ihm gebildete Acetessigsäure nicht überschritten, während das letztere bei mangelhafter oder mangelnder Kohlenhydratverbrennung der Fall ist.

Ganz ähnlich dürfte auch die Hemmungswirkung der n-Valeriansäure, der Amino-n-Capronsäure und der Isobutylessigsäure zu erklären sein. Wenn man unter alleinigem Zusatz

[1]) Embden und Lattes, Über die Acetessigsäurebildung in der Leber des diabetischen Hundes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 327.

[2]) Diese Zeitschr. 27, 34, 1910.

der Acetessigsäure bildenden Substanzen Isovaleriansäure, Capronsäure die Durchblutung vornimmt, so lebt die Leber ausschließlich oder doch ganz vorwiegend auf Kosten dieser Substanzen, wodurch naturgemäß die aus den letzteren intermediär gebildeten Abbauprodukte reichlicher auftreten, als wenn der Leber für die in ihr sich abspielenden Verbrennungsprozesse neben der Acetessigsäure bildenden noch eine andere, nicht Acetessigsäure bildende Substanz zur Verfügung steht. Wird z. B. die Leber gleichzeitig mit Isovaleriansäure und n-Valeriansäure durchblutet, so deckt sie ihren Nahrungsbedarf nicht nur aus der Isovaleriansäure, sondern auch aus der n-Valeriansäure; aus der letzteren vielleicht sogar in stärkerem Maße, weil allem Anschein nach unter sonst gleichen Umständen Substanzen mit normaler Kette in der isolierten Leber leichter als solche mit verzweigter Kette angreifbar sind.[1])

Hiernach würde also die Fähigkeit einer Substanz, die Acetessigsäurebildung aus anderen Substanzen in der Leber zu hemmen, vielleicht eine Funktion ihrer Verbrennlichkeit in der Leber sein.

Es lag sehr nahe, auch eine Substanz auf die genannte Hemmungswirkung zu prüfen, deren Verabreichung an Tiere und Menschen mit Acidosis nach kürzlich veröffentlichten Versuchen von Baer und Blum[2]) eine besonders hochgradige antiketogene Wirkung entfaltet: die Glutarsäure. Aus Tabelle VIII, Versuche Nr. 23 und 24, geht hervor, daß Zusatz von 6 g Glutarsäure zum Durchblutungsblut ohne jeden Einfluß auf die Acetessigsäurebildung aus Isovaleriansäure ist. Daraus wird man vielleicht schließen dürfen, daß die Glutarsäure in der isolierten Leber relativ schwer verbrennlich ist.

Wir haben soeben die antiketogene Wirkung, die durch nicht Acetessigsäure bildende verbrennliche Fettsäuren in der künstlich durchbluteten Leber ausgeübt wird, in Parallele gesetzt mit der antiketogenen Wirkung einer Ernährung mit Kohlenhydraten.

[1]) Wir schließen dies daraus, daß z. B. Fettsäuren mit unverzweigter Kette stärker Acetessigsäure bilden als diejenigen mit verzweigter; Capronsäure z. B. stärker als Isovaleriansäure. Dementsprechend scheinen auch Substanzen mit normaler Kette die Acetessigsäurebildung stärker zu hemmen, als solche mit verzweigter.

[2]) Baer und Blum, Über die Einwirkung chemischer Substanzen auf die Zuckerausscheidung und die Acidose. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 80, 1907 und 11, 101, 1908.

Tabelle VIII.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
23	115	1600	60	2 g Isovaleriansäure 6 „ Glutarsäure	72	
24	185	1600	60	2 „ Isovaleriansäure 6 „ Glutarsäure	70	

Gelingt es nun nicht, auch in der isolierten Leber direkt für die Kohlenhydrate eine antiketogene Wirkung nachzuweisen? Wir haben zunächst eine Reihe von Versuchen vorgenommen, in denen wir dem Durchblutungsblute teils neben Isovaleriansäure, teils neben Capronsäure Traubenzucker zufügten. Aus den vier Versuchen der Tabelle IX (Versuch 25 bis 28) geht übereinstimmend hervor, daß der Traubenzucker ohne merkliche Einwirkung auf den Umfang der Acetessigsäurebildung aus den beiden eben genannten Substanzen war, ja bei den beiden Versuchen mit Capronsäure (Versuche Nr. 27 und 28) erscheint die Acetessigsäurebildung besonders hoch: 172 bzw. 150 mg pro Liter.

Tabelle IX.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
25	165	1600	60	2 g Isovaleriansäure 6 „ d-Glucose	66	
26	148	1600	60	2 „ Isovaleriansäure 6 „ d-Glucose	84	
27	159	1600	60	2 „ n-Capronsäure 6 „ d-Glucose	172	
28	260	1600	60	2 „ n-Capronsäure 6 „ d-Glucose	150	

Ein weiterer, an der Leber eines mit hohem Fieber erkrankten Hundes unter Zusatz von 2 g Isovaleriansäure und 6 g Traubenzucker gemachter Versuch zeigte allerdings eine

auffallend niedrige Acetessigsäurebildung (46 mg pro Liter); bei der abnormen Beschaffenheit des Versuchstieres und den entgegenstehenden Resultaten der vier Versuche in Tabelle IX möchten wir ihm aber irgendwelche Bedeutung nicht zumessen.

Nach den eben besprochenen Ergebnissen der Versuche mit Traubenzucker möchten wir auch diese Substanz für relativ schwer verbrennbar in der isolierten Leber halten.

In den Versuchen mit Traubenzucker schafften wir eine sehr hochgradige Hyperglykämie. Zu einem Ansatz von Glykogen kommt es, wie aus früher veröffentlichten Versuchen von Embden[1]) hervorgeht, in der künstlich durchbluteten Leber bei den gewählten Versuchsbedingungen nicht. Es hatte also die künstlich durchblutete Leber in gewisser Weise Ähnlichkeit mit der eines diabetischen Organismus; auch hier kommt es trotz reichlichen Zuckergehaltes im Blute nicht zu einer entsprechenden Glykogenablagerung in der Leber.

Von besonderem Interesse mußte es nunmehr sein, das Verhalten einer abnorm glykogenhaltigen Leber[2]) bezüglich der Acetessigsäurebildung zu untersuchen.

Zur Erzielung eines möglichst hohen Glykogengehaltes der Leber wurden die Hunde, wie auch in den übrigen Versuchen, mit gemischter Nahrung gefüttert, außerdem ihnen aber während mehrerer Tage große Mengen Rohrzucker (eventuell mit der Schlundsonde) verabreicht. Während der letzten 24 Stunden erhielten die Tiere außer wiederholten Rohrzuckereingießungen — die letzte wurde wenige Stunden vor der Tötung vorgenommen — keinerlei Nahrung. Die Leber so vorbehandelter Tiere erwies sich als außerordentlich glykogenhaltig.

In einem Falle, wo das Glykogen nach Pflüger bestimmt wurde, betrug der Glykogengehalt annähernd 20% des feuchten Lebergewichts.

---

[1]) G. Embden, Über Zuckerbildung bei künstlicher Durchblutung der glykogenfreien Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 48, 1904.

[2]) Die in allen unseren bisherigen Versuchen verwendeten Lebern sind, da nach einer Fütterung mit gemischter Nahrung stets eine 24stündige Hungerperiode dem Versuche vorangegangen war, ziemlich glykogenarm gewesen.

Die Versuche an der stark glykogenhaltigen Leber sind in der Tabelle X, Versuche Nr. 29 bis 35, zusammengestellt.

Tabelle X.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der durchbluteten Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
29	215	1600	57	2 g Isovaleriansäure	37	
30	605	1600	30	2 „ „	20	+ 200 ccm 0,85 %ige NaCl-Lösung
31	390	1600	60	2 „ „	36	
32	200 (nach Abbindung von 135 g)	1600	60	2 „ „	31	135 g Leber wurden abgebunden und nicht durchblutet
33	140	1600	60	2 „ „	37	85 g Leber wie vor.
34	357	1600	60	4 „ „	58	
35	645	1600	60	2 „ n-Capronsäure	79	+ 200 0,85 %ige NaCl-Lösung

In den Versuchen Nr. 29 bis 33 wurde die stark glykogenhaltige Leber mit je 2 g Isovaleriansäure durchblutet. Wie man sieht, sind in diesen Versuchen die gewonnenen Acetonwerte weit niedriger als in den früheren Versuchen mit Isovaleriansäure an der glykogenarmen Leber. Die Werte schwanken zwischen 20 bis 37 mg. In Versuch Nr. 34 wurde die Leber mit 4 g Isovaleriansäure durchströmt, hier ist die Hemmungswirkung keine ausgesprochene: 58 mg pro Liter. Auch der folgende Versuch Nr. 35, der mit 2 g Capronsäure vorgenommen wurde, lieferte einen Acetonwert von 79 mg pro Liter. Als eine deutliche Hemmung kann dies nicht angesehen werden. Immerhin geht aus den fünf übereinstimmenden Versuchen mit 2 g Isovaleriansäure hervor, daß der Umfang der Acetessigsäurebildung aus dieser Substanz in der stark glykogenhaltigen Leber weit geringer ist, als in der glykogenarmen. In den Versuchen Nr. 30 und 31 war allerdings das Lebergewicht unter dem Einfluß der Glykogenmästung ein sehr großes (605 und 390 g), was möglicherweise nicht ganz ohne Einfluß auf das Ergebnis war. In den Versuchen 29, 32, 33 handelt es sich dagegen um Lebern von der gewohnten Größe. Die Leber vom Versuch Nr. 29

stammte von einem relativ kleinen Hunde; in Versuch Nr. 32 und 33 waren Teile der Leber vor der Durchblutung nach Abbindung abgetrennt worden, um ein den früheren Versuchen ähnliches Lebergewicht zu erzielen. Wir haben uns besonders davon überzeugt, daß die Abbindung von Leberlappen an sich ohne merklichen Einfluß auf den Umfang der Acetonbildung ist (s. Seite 6, Tabelle I, Versuch 3).

Ohne Frage wird also in einer stark glykogenhaltigen Leber weniger Acetessigsäure aus einer Acetessigsäure bildenden Substanz oder doch zum mindesten aus der Isovaleriansäure gebildet, als in einer glykogenarmen Leber. Es scheint hiernach also unter Zugrundelegung der oben geäußerten Vorstellungen über das Wesen der antiketogenen Wirkung, als ob in der Leber abgelagertes Glykogen verbrennlicher ist, als im Blute bei der Durchströmung der Leber noch so reichlich vorhandener Traubenzucker. Diese Annahme konnte in demnächst ausführlich zu veröffentlichenden Versuchen von Embden und Kraus[1]) auf einem ganz andern Wege als dem hier beschrittenen und unabhängig von der vorliegenden Untersuchung als richtig erwiesen werden. Es zeigte sich nämlich in jenen Versuchen, daß in der Leber reichlich abgelagertes Glykogen weit stärker unter intermediärer Milchsäurebildung abgebaut wird, als Traubenzucker, wenn letzterer auch in sehr großer Menge dem Durchblutungsblut zugefügt wurde. Freilich als völlig unangreifbar erwies sich auch der Traubenzucker nicht. Es ist aber für das Zustandekommen einer antiketogenen Wirkung voraussichtlich nicht nur nötig, daß die in Frage kommende Substanz überhaupt verbrennlich ist, sondern daß ihre Verbrennung mit einer gewissen Leichtigkeit — fast möchte man sagen, in einem dem Abbau der Acetessigsäure bildenden Substanz entsprechenden Tempo — erfolgt. Daher kann es auch nicht wundernehmen, daß die allem Anschein nach besonders leicht verbrennliche (besonders reichlich Acetessigsäure bildende) n-Capronsäure in dem einen vorgenommenen Versuch Nr. 35 nicht wesentlich durch den abnormen Glykogengehalt in ihrem Abbau behindert wurde.

[1]) Siehe auch: Embden und Kraus, Beitrag zur Lehre vom Abbau der Kohlenhydrate im Tierkörper. XXVI. Kongreß für innere Medizin, Wiesbaden 1909.

Wie das verschiedenartige Verhalten des Glykogens und des Traubenzuckers bezüglich der Verbrennbarkeit in der isolierten Leber zu erklären ist, darüber möchten wir uns nur mit größter Zurückhaltung äußern. Vielleicht genügt zur Erklärung die Tatsache, daß eine stark glykogenhaltige Leber in ihren Zellen Kohlenhydrat in weit höherer Konzentration enthält (bis zu 20% des feuchten Gewichts), als die von einem abnorm zuckerhaltigen Blute durchströmte Leber, wofern sie den Zucker nicht zur Ablagerung als Glykogen verwenden kann. Welches aber auch die theoretische Erklärung für den Unterschied in der Verbrennbarkeit von Traubenzucker und Glykogen in der Leber sein mag, die Tatsache dieses Unterschiedes scheint für unsere Auffassung von der diabetischen Störung des Kohlenhydratstoffwechsels von wesentlicher Bedeutung zu sein, und die so oft ausgesprochene Theorie, die das Wesen dieser Störung in einer Unfähigkeit oder mangelhaften Fähigkeit des Organismus, das Glykogen in den Organen abzulagern, sucht, findet durch die eben geschilderten Versuche eine gewichtige experimentelle Stütze.

Wir sahen oben, daß Traubenzucker eine merkliche Hemmung der Acetessigsäurebildung aus Isovaleriansäure und n-Capronsäure nicht hervorzurufen vermag. Ebenfalls ohne Einfluß auf den Umfang der Acetessigsäurebildung aus Isovaleriansäure erwies sich ein Zusatz von 6 g Alanin und ein solcher von 5,4 g dl α-Milchsäure (Tabelle XI, Versuch 36 und 37), während einige Versuche mit Glycerin nicht eindeutig ausfielen und hier keine nähere Erwähnung finden sollen.

Tabelle XI.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
36	165	1600	60	2 g Isovaleriansäure 6 g Alanin	82	
37	146	1600	60	2 g Isovaleriansäure 5,4 g dl α-Milchsäure	82	

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, daß verschiedenartige Substanzen, gleichzeitig mit Acetessigsäurebildnern dem Durchblutungsblute hinzugefügt, die Acetessigsäurebildung aus den letzteren mehr oder weniger vollständig hemmen können.

Als solche hemmende Substanzen konnten namentlich die n-Valeriansäure, die Amino-n-capronsäure (die aller Wahrscheinlichkeit nach bei ihrem Abbau intermediär in n-Valeriansäure übergeht) und in geringerem Grade auch die Isobutylessigsäure erkannt werden.

Anscheinend hängt der Grad der Hemmungswirkung einer Substanz auf die Acetessigsäurebildung in der Leber von ihrer Verbrennbarkeit in diesem Organ ab.

Ein hoher Gehalt der Leberzellen an Glykogen übt wenigstens auf die Acetonbildung aus Isovaleriansäure einen stark hemmenden Einfluß aus, während im Gegensatz dazu Traubenzuckerzusatz ohne Einfluß auf die Acetessigsäurebildung in der Leber ist. Hieraus darf geschlossen werden, daß in der Leber abgelagertes Glykogen weitaus leichter verbrannt wird, als dem Durchblutungsblute zugefügter Traubenzucker.

Ebenso wenig wie Traubenzucker vermögen dl-Alanin und dl-Milchsäure eine Hemmung der Acetessigsäurebildung in der Leber hervorzurufen. Die Wirkung des Glycerins blieb unsicher.

Auf die aus den vorliegenden Untersuchungen weiterhin gezogenen Schlußfolgerungen soll hier nicht nochmals eingegangen werden.

Über den Abbau des Isoleucins in der Leber.

Von

Joseph Wirth.

(Aus dem städt. chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 7. Juni 1910.)

Die Durchblutungsversuche an der überlebenden Hundeleber von Embden, Salomon und Schmidt[1]) sowie von Embden und Marx[2]) hatten als Muttersubstanzen der Acetessigsäure sowohl Fettsäuren als auch die Eiweißspaltungsprodukte Leucin, Tyrosin und Phenylalanin ergeben.

Das Eiweißabbauprodukt Isoleucin war bisher nicht berücksichtigt worden. Es wurde daher in der vorliegenden Arbeit dieser Körper auf seine Fähigkeit, in der künstlich durchbluteten Leber Acetessigsäure zu bilden, untersucht.

Nimmt man an, daß das Isoleucin Acetessigsäure bildet, so war nach den bisherigen Erfahrungen über die Schicksale von Aminosäuren in der Leber zu erwarten, daß auch hier der Abbau unter Abspaltung des Carboxylkohlenstoffs und Desamidierung erfolgen und so eine Säure mit einem Kohlenstoffatom weniger, also die Methyläthylessigsäure[3]) entstehen würde.

Ich habe daher zunächst Durchblutungsversuche mit dieser Substanz angestellt. Die Durchblutung erfolgt ganz in der von Embden und Kalberlah[4]) angegebenen Weise.

---

[1]) Embden, Salomon und Schmidt, Über Acetonbildung in der Leber, II. Mitteilung. Quellen des Acetons. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 129, 1906.

[2]) Embden und Marx, Über Acetonbildung in der Leber, III. Mitteilung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 318, 1908.

[3]) Die Methyläthylessigsäure wurde aus Methyläthylmalonsäure durch vorsichtiges Erhitzen über dem Schmelzpunkt dargestellt. Durch die Siedepunktbestimmung wurde sie auf ihre Reinheit geprüft.

[4]) Embden und Kalberlah, Über Acetonbildung in der Leber, I. Mitteilung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 121, 1906.

Die Resultate gehen aus der Tabelle I hervor.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht des Hundes kg	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkungen
1	4,6	1600	75	2 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	23	
2	5,2	1600	75	2 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	34	
3	9,8	1600	75	2 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	38	
4	7	1600	75	2 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	29	
5		1600	60	2 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	59	
6		1600	70	2 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	47	
7	4,0	1600	75	5 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	52	
8	5,5	1600	75	5 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	60	
9	6,6	1600	75	6 g Methyläthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	33	

Von diesen Versuchen ergaben Nr. 3, 5, 6, 7, 8 eine deutlich vermehrte Bildung von Acetessigsäure bzw. Aceton; Nr. 2 und 9 überschreiten die bei Durchblutung ohne Zusatz sonst erhaltenen Werte von 12 bis 27 mg um ein Geringes, sie sind als Grenzwerte anzusehen; Nr. 1 und 4 lassen keine Mehrbildung von Aceton erkennen. Die Methyläthylessigsäure weist also hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Acetessigsäure zu bilden, ein schwankendes Verhalten auf.

Durchblutungsversuche mit synthetisch gewonnenem d-l-Isoleucin ergaben die in Tabelle II enthaltenen Werte.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nr.	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkungen
10	7		1600	75	2 g Isoleucin	35	Gelöst in je 200 ccm 0,85% Kochsalzlösung
11	3,9	klein	1600	65	5 „ „	49	
12			1600	60	5 „ „	25	

Während in Versuch 11 eine deutliche, in Versuch 10 eine immerhin merkliche Acetessigsäurebildung — 49 und 35 mg Aceton — erfolgte, läßt Versuch 12 keine Mehrbildung gegenüber der Norm erkennen. Versuchsfehler waren an diesem schwankenden Verhalten ebensowenig wie in den Versuchen der Tabelle I schuld.

Die Tatsache nun, daß das Isoleucin sowohl wie die Methyläthylessigsäure bei der künstlichen Durchblutung der Leber unter gleichen Versuchsbedingungen einmal Acetessigsäure bildet und das andere Mal nicht, ist eine sehr auffallende; denn bisher hatten alle untersuchten Substanzen sich, wenn einmal dann stets als Acetessigsäurebildner erwiesen.

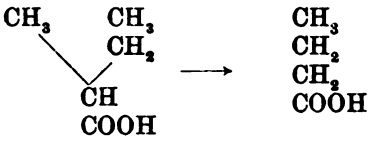
Ein Analogon findet die Tatsache in Fütterungsversuchen, die Bär und Blum[1]) an Zuckerkranken mit Methyläthylessigsäure und verschiedenen anderen verzweigten Fettsäuren, wie β-Methylbuttersäure und Äthylmethylpropionsäure, ausführten. Sie fanden nach ihrer Angabe, daß diese Substanzen in β-Oxybuttersäure übergingen, und zwar die α-Methylbuttersäure (Methyläthylessigsäure) nur unter Umständen, die beiden anderen Säuren stets.

Mit α-Methylbuttersäure (Methyläthylessigsäure) machten Bär und Blum an zwei Patienten je zwei Versuche (s. Tab. V bis VII ihrer Arbeit). Von diesen vier Versuchen deuten Bär und Blum nur einen als positiv (Tab. VII, Tag 24), bei zwei anderen halten sie eine Vermehrung der Acetonkörperausscheidung für möglich; den ersten Versuch (Tab. V) sehen sie selbst als negativ an. Bei dem in den übrigen Tagen sehr schwankenden Verhalten des Patienten II kann man aber nur Versuche als positiv rechnen, die eine deutliche Vermehrung der Acetonkörperausscheidung erkennen lassen, also nur Versuch Tabelle VII, Tag 24, so daß meines Erachtens einem positiven drei negative Resultate gegenüber stehen und Bär und Blum auf Grund ihrer Versuche die β-Methylbuttersäure kaum als Acetessigsäurebildner ansprechen durften.

Über die Art des Abbaues der untersuchten Fettsäuren mit verzweigter Kette gelangen Bär und Blum in ihrer Arbeit zu der Anschauung, daß dieser unter Erhaltung der ursprünglichen Carboxylgruppe und der geraden Reihe von vier Kohlen-

[1]) Bär und Blum, Über den Abbau von Fettsäuren bei Diabetes mellitus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 55 und 56, 1906.

stoffatomen vor sich gehe. Bei der Methyläthylessigsäure gelangen sie, nachdem sie den Abbau über Äthylmalonsäure und Bernsteinsäure ausgeschlossen haben, zu dem Schluß, daß der Abbau durch Abspaltung der in α-Stellung befindlichen Methylgruppe erfolgt:



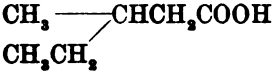
Es wird also hier die Methylgruppe durch H ersetzt. Die so entstehende Buttersäure ist ein kräftiger Acetessigsäurebildner. Der Ersatz der Methyl- durch eine Hydroxylgruppe würde zur α-Oxybuttersäure führen, die nach den Versuchen von Embden und Marx[1]) kein Acetonbildner ist. Ebenso würde die Methyläthylessigsäure ohne intermediäre Acetessigsäurebildung abgebaut werden, wenn statt der am α-C-Atom stehenden Methylgruppe die Äthylgruppe durch die Hydroxylgruppe oder ein Wasserstoffatom ersetzt würde, wodurch Milchsäure oder Propionsäure entstehen würden.

Diese beiden Säuren sind aber ebensowenig wie die α-Oxybuttersäure Acetessigsäurebildner.

Daß die Absprengung einer an ein tertiäres Kohlenstoffatom gebundenen Äthylgruppe tatsächlich vorkommt, erweist das Verhalten der Methyläthylpropionsäure im Organismus, die in Fütterungsversuchen von Bär und Blum sich als β-Oxybuttersäurebildner und ebenso auch in von mir vorgenommenen Durchblutungsversuchen sich als Acetessigsäurebildner erwies (siehe Tab. III).

In drei Versuchen wurden je 46, 46, 59 mg Aceton pro Liter des Durchblutungsblutes gebildet.

Erfolgte der Abbau der Methyläthylpropionsäure durch Abspaltung der Methylgruppe, so würde entstehen aus



entweder durch Eintritt von H an Stelle der Methylgruppe n-Valeriansäure oder durch Eintritt von OH β-Oxy-n-Valerian-

[1]) Embden und Marx, Über Acetonbildung in der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 322, 1908. Tabelle II, Versuch 16 und 17.

säure. Beide Körper sind aber keine Acetessigsäurebildner, während doch die Methyläthylpropionsäure nach drei übereinstimmenden Durchblutungsversuchen deutlich Acetessigsäure zu bilden vermag.

Tabelle III.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nr.	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkungen
13	6,2	200	1600	60	5 g Methyläthylpropionsäure	46	
14	7,7	285	1600	60	2 g Methyläthylpropionsäure	46	
15	5,2	270	1600	60	2 g Methyläthylpropionsäure	59	

Der Abbau der Methyläthylpropionsäure zu Acetessigsäure kann also nur durch Abspaltung der Äthylgruppe erfolgen, wobei durch Eintritt von H oder OH Buttersäure oder β-Oxybuttersäure entstehen würde. Beide Substanzen sind Acetessigsäurebildner.

Ein weiterer Beweis für die Abspaltung der Äthylgruppe konnte durch Versuche mit der Diäthylessigsäure erbracht werden. In drei Versuchen (Tab. IV) wurden dem Durchblutungsblute je 2 g Diäthylessigsäure hinzugesetzt; es wurden gebildet: 23, 81, 48 mg Aceton pro Liter des Durchblutungsblutes.

Tabelle IV.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nr.	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkungen
16	6	210	1600	60	2 g Diäthylessigsäure mit NH_3 neutralisiert	23	
17	4	135	1600	60	Dasselbe	81	Sauerstoffzufuhr gering
18	4	110	1600	60	Dasselbe	48	

Die Diäthylessigsäure ist also ein unsicherer Acetessigsäurebildner. Augenscheinlich stehen auch dieser Substanz wie der Methyläthylessigsäure mehrere Wege zum Abbau zur Verfügung. (Je nachdem die eine Äthylgruppe bei ihrer Abspaltung durch H oder OH ersetzt wird, würde Buttersäure oder α-Oxybuttersäure entstehen, von denen die erstere Acetessigsäure bildet, die letztere nicht.)

Nach Bär und Blum bewirkt die Diäthylessigsäure bei Verabreichung an Zuckerkranke eine „recht bedeutende Vermehrung der β-Oxybuttersäureausscheidung". Sie gelangen zu dieser Ansicht auf Grund nur eines Versuches (einen zweiten Versuch verwerfen sie selbst als nicht einwandfrei), der keineswegs als beweiskräftig angesehen werden kann, da die Vermehrung der Gesamtoxybuttersäureausscheidung am Tage nach dem Versuch noch weiter ansteigt und an den beiden darauffolgenden Tagen höher bleibt, als am Versuchstage. Offenbar war also die Verfütterung der Substanz in eine Zeit steigender Acetonkörperausscheidung gefallen, was für die Versuchsresultate nicht genügend bewertet wurde.

Wie oben erwähnt, nahmen Bär und Blum ihre Versuche mit Methyläthylessigsäure an zwei Zuckerkranken vor, und eine Steigerung der Acetonkörperausscheidung erhielten sie bei dem Patienten mit schwerer Acidonis. Sie erklären dies damit, daß je nach der Schwere der Stoffwechselstörung das Material, aus dem der Körper die β-Oxybuttersäure bildet, verschieden ist. Bei geringerer Störung finde die Bildung aus Substanzen, die eine Seitenkette in β-Stellung oder eine gerade Zahl von vier oder mehr Kohlenstoffatomen haben, statt, während bei schwereren Fällen auch andere Substanzen, wie z. B. die Äthylmethylessigsäure, herangezogen würden.

Ebenso sehr dürfte aber wohl mit Hinsicht auf die hier voranstehende Arbeit von Embden und Wirth eine andere Erklärung in Betracht kommen. Es stehen dem Körper zum Abbau des Isoleucins und der Methyläthylessigsäure mehrere Wege zur Verfügung: entweder geht dieser Abbau nur über Acetessigsäure oder aber es werden nur andere verbrennliche Säuren, wie α-Oxybuttersäure, α-Oxypropionsäure, Propionsäure, gebildet oder aber es läuft der Abbau über Acetessigsäure neben anderen Arten des Abbaues her.

In diesem letzteren Falle werden sich nach den in der voranstehenden Arbeit von Embden und Wirth gemachten Erfahrungen die beiden verschiedenartigen Abbauprozesse gegenseitig beeinflussen. Insbesondere wird das Auftreten leicht verbrennlicher intermediärer Produkte eine hemmende Wirkung auf die Acetessigsäurebildung ausüben.

Darüber, warum bald dieser, bald jener Weg zum Abbau bevorzugt wird, läßt sich zurzeit keine Vermutung äußern.

Das wesentlichste Ergebnis der vorliegenden Arbeit dürfte in der Erkenntnis bestehen, daß, während die früher untersuchten, einfacher gebauten Substanzen in der Leber stets in der gleichen, in ihrer Gesetzmäßigkeit leicht zu durchschauenden Weise abgebaut wurden, die in der vorliegenden Arbeit geprüften Körper mit komplizierterer Kettenverzweigung nicht nur auf einem einzigen, sondern auf mehreren Wegen abgebaut werden können.

Von diesen Wegen wird bald der eine und bald der andere bevorzugt, und so kommt es, daß ein und dieselbe Substanz bald als Acetessigsäurebildner erscheint, bald nicht.

Über den Chemismus des Leucinabbaues in Leber.

Von

Fritz Sachs.

(Aus dem städt. chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 7. Juni 1910.)

In früheren Arbeiten[1]) konnte gezeigt werden, daß bei der künstlichen Durchblutung der Leber aus bestimmten Fettsäuren und Aminofettsäuren, die dem Durchblutungsblute zugesetzt werden, Acetessigsäure gebildet wird.

Auf Grund dieser Versuche konnten bestimmte Anschauungen über die Muttersubstanzen der Acetonkörper im tierischen Organismus und über die beim Abbau von Fettsäuren und Aminosäuren im Tierkörper intermediär sich abspielenden Prozesse gewonnen werden.

Was insbesondere den Abbau der α-Aminosäuren betrifft, so gelangten wir zu der Vorstellung, daß diese Substanzen zunächst in Körper — wahrscheinlich in Fettsäuren — mit einem Kohlenstoffatom weniger umgewandelt würden, um alsdann genau so wie diese um ein C-Atom ärmeren Fettsäuren weiter verarbeitet zu werden.

Für eine derartige Umwandlung der Aminosäuren in Fettsäuren mit einem C-Atom weniger sprach die Tatsache, daß sich die Aminosäuren bezüglich der Acetessigsäurebildung in der Leber stets anders wie die ihnen an C-Atomzahl entsprechenden und stets gerade so wie die um ein C-Atom ärmeren Fett-

[1]) Embden, Salomon und Schmidt, Über Acetonbildung in der Leber. II. Mitteilung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 129, 1906. — Embden und Marx, Über Acetonbildung in der Leber. III. Mitteilung. Ebenda 11, 318, 1908. — Embden und Engel, Über Acetessigsäurebildung in der Leber. Ebenda 11, 323, 1908.

säuren verhalten. So bildet z. B. die α-Aminonormalvaleriansäure im Gegensatze zu der ihr entsprechenden Normalvaleriansäure und in Übereinstimmung mit der um ein C-Atom ärmeren Normalbuttersäure, Acetessigsäure, während die der Acetessigsäure bildenden Normalcapronsäure entsprechende Aminonormalcapronsäure gerade so wie die um ein C-Atom ärmere Normalvaleriansäure kein Acetessigsäurebildner ist.

Ganz entsprechend liegen die Verhältnisse auch bei der Isobutylaminoessigsäure, dem gewöhnlichen Leucin. Im Gegensatze zur Isobutylessigsäure und in Übereinstimmung mit dem nächst niederen Homologon der letzteren, der Isovaleriansäure, wird das Leucin bei der Durchblutung der Leber unter Acetessigsäurebildung abgebaut.

Wenn nun die Aminosäuren bei ihrem Abbau in der Leber in Wahrheit in die nächst niederen Fettsäuren umgewandelt werden, so ergibt sich ohne weiteres die Frage, wie im einzelnen sich diese Umwandlung vollzieht.

Wir haben in der vorliegenden Arbeit an dem Beispiel einer bestimmten, Acetessigsäure bildenden Aminosäure, eben dem Leucin, dieser Frage experimentell näher zu treten versucht.

Beim Abbau einer α-Aminosäure zur nächst niederen Fettsäure kommen zwei Hauptvorgänge in Betracht: Die Absprengung des Carboxylkohlenstoffatoms von der Kette und die unter Verlust der Aminogruppe erfolgende Oxydation des α-C-Atoms zur Carboxylgruppe.

Falls diese beiden Vorgänge — die Abspaltung des Carboxyl-C-Atoms und die Desamidierung und Oxydation des α-C-Atoms zur Carboxylgruppe — nicht gleichzeitig erfolgen, so muß entweder zuerst das Carboxyl-C-Atom abgespalten werden, und erst dann die Desamidierung und Oxydation am α-C-Atom einsetzen, oder es könnte zunächst die Desamidierung und vielleicht auch eine beginnende Oxydation am α-C-Atom erfolgen und erst dann die Abspaltung der Carboxylgruppe vor sich gehen.

Im ersteren Falle, beim Beginn des Abbaus der Aminosäuren mit der Abspaltung des Carboxyl-C-Atoms, würde als nächstes Umwandlungsprodukt das um ein C-Atom ärmere Amin entstehen, aus Leucin z. B. das Isoamylamin. Aus dem Isoamylamin würde dann durch Desamidierung und Oxydation

Isoamylalkohol, Isovaleraldehyd und Isovaleriansäure gebildet werden können.

Geht aber die Desamidierung der Abspaltung des Carboxyl-C-Atoms voraus, so würde aus dem Leucin die Isobutyloxyessigsäure (Leucinsäure) ev. auch die dieser Oxysäure entsprechende Ketosäure entstehen und also erst nach dieser Desamidierung unter Carboxylabspaltung wiederum Isoamylalkohol, Isovaleraldehyd und Isovaleriansäure gebildet werden können.

Wir haben nun versucht, ob die genannten Substanzen — mit Ausnahme der eben erwähnten Ketosäure — als intermediäre Produkte beim Abbau des Leucins zur Isovaleriansäure in Betracht kommen, d. h. ob sie, dem Durchblutungsblute zugefügt, ebenso wie das Leucin und die Isovaleriansäure Acetessigsäure bilden.

Die Ausführung unserer Versuche war genau die gleiche wie in den früheren Arbeiten über Acetessigsäurebildung in der Leber, sodaß wir bezüglich aller Einzelheiten der Versuche auf diese, namentlich auf die von Embden, Salomon, Schmidt (l. c.) gemachten Angaben hinweisen können.

Außer den Acetonbestimmungen nach Messinger-Huppert haben wir in einer Reihe von Fällen auch getrennte Bestimmungen des Gesamtacetons und des Acetons aus Acetessigsäure nach Embden und Schliep vorgenommen. Wir wollen gleich hier bemerken, daß in allen Fällen bei weitem die Hauptmasse des durch Destillation aus dem Durchblutungsblut gewinnbaren Acetons während der Durchblutung gebildeter Acetessigsäure entstammte, ein Befund, der ganz mit den früher von Embden und Engel[1]) gemachten Beobachtungen übereinstimmt.

Von den zur Durchblutung verwendeten Substanzen waren das Isoamylamin, der Isovaleraldehyd und der Isoamylalkohol käuflich von Kahlbaum bezogen, die l-Leucinsäure und die d-l-Leucinsäure wurden von uns aus l-Leucin und d-l-Leucin durch Desamidierung unter Anwendung der äquivalenten Menge Natriumnitrit und Salzsäure unter gelinder Erwärmung dargestellt. Die Säuren wurden durch Kochen mit Zinkcarbonat in ihre schwer löslichen Zinksalze übergeführt, die Zinksalze mit Schwefelsäure zerlegt und die Säuren im Kutscher-Steudelschen Extraktionsapparat mit Äther extrahiert. Sie krystallisierten beim Verdunsten des Äthers sehr leicht und wurden durch Lösen in möglichst wenig Äther und Fällen mit Petroläther gereinigt.

[1]) G. Embden und H. Engel, l. c.

Der Schmelzpunkt der reinen l-Leucinsäure betrug 78 bis 79° (Beginn des Sinterns bei 72 bis 73°), derjenige der d-l-Leucinsäure 64° (Beginn des Sinterns bei 58 bis 59°).

In der untenstehenden Tabelle I sind die Resultate der Durchblutungsversuche mit je 2 g der auf Acetessigsäurebildung zu prüfenden Substanzen wiedergegeben. Die Versuche mit sämtlichen Substanzen, ausgenommen diejenigen mit der d-l-Leucinsäure wurden doppelt, diejenigen mit l-Leucinsäure dreifach ausgeführt.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6
Nr. d. Vers.	Dem Durchblutungsblute zugefügte Substanz	Dauer der Durchblutung Min.	Acetonbildung pro Liter Blut mg	Menge des Acetons aus Acetessigsäure im Blute nach der Durchblutung pro Liter mg	Bemerkungen
1	2 g l-Leucinsäure mit NH_3 neutralisiert	75	65	—	
2	Dasselbe	60	44	41	
3	Dasselbe	75	78	—	
4	2 g d-l-Leucinsäure mit NH_3 neutralisiert	75	59	60	
5	2 g Isoamylamin mit HCl neutralisiert	60	103	—	
6	Dasselbe	60	81	—	
7	2 g Isoamylalkohol	60	38	32	
8	Dasselbe	60	41	—	
9	2 g Isovaleraldehyd	75	92	—	
10	Dasselbe	60	108	102	

Es ergibt sich aus der Kolonne 4 der Tabelle, daß von den untersuchten 5 Substanzen 4, nämlich die l-Leucinsäure, die d-l-Leucinsäure, das Isoamylamin und der Isovaleraldehyd kräftige Acetonbildner sind.

Während bei der Durchblutung der Leber ohne Zusatz in den Versuchen von Embden und Kalberlah[1]) die Werte der Acetonbildung pro Liter zwischen 12 und 27 mg schwankten, bewegen sich die entsprechenden Werte bei Durchströmung unter Zusatz von Leucinsäure zwischen 44 und 78 mg. Die Acetonbildung aus Isoamylamin (103 und 81 mg pro Liter) und Isovaleraldehyd (92 und 108 mg) ist noch weit höher.

[1]) G. Embden und Fr. Kalberlah, Über Acetonbildung in der Leber. I. Mitteilung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 128, 1906.

Sehr viel geringer war die Acetonbildung bei Zusatz der fünften untersuchten Substanz, des Isoamylalkohols. Die Werte von 38 und 41 mg pro Liter erheben sich nicht sehr wesentlich über die früher erhaltenen Maximalwerte für die Acetonbildung ohne Zusatz Aceton bildender Substanzen.

Es soll bereits an dieser Stelle bemerkt werden, daß eine weitere experimentelle Verfolgung dieses Versuchsresultats zu dem Ergebnis führte, daß Isoamylalkohol, namentlich in etwas größeren Dosen, als den hier angewandten, bei der Durchblutung der Leber eine intensive Giftwirkung ausübt, derart, daß bei Anwendung großer Dosen (8 bis 10 g) die Acetonbildung in der Leber völlig oder nahezu völlig unterdrückt wird, ein Verhalten, das wir bisher bei keiner der zahlreichen anderen untersuchten Substanzen beobachtet haben.

Die Giftwirkung, die der Isoamylalkohol bei der künstlichen Durchblutung der Leber ausübt, läßt es natürlich nicht ausgeschlossen erscheinen, daß trotzdem diese Substanz beim Abbau des Leucins in der Leber intermediär gebildet wird. Ist doch die Konzentration, in der der Amylalkohol im Versuch am isolierten Organ vorhanden ist, von einer ganz anderen Größenordnung, wie sie jemals im lebenden Organismus auftreten kann.

Sehr bemerkenswert erscheint es, daß der Isovaleraldehyd und das Isoamylamin in der isolierten Leber anscheinend weit leichter angreifbar sind, als der entsprechende Alkohol.

Die Acetessigsäurebildung aus Isovaleraldehyd, aus Isoamylamin und aus Leucinsäure in der künstlich durchströmten Leber läßt die Möglichkeit offen, daß die genannten drei Substanzen beim Abbau des Leucins als intermediäre Produkte auftreten.

Die leichte Angreifbarkeit der Leucinsäure in der durchbluteten Leber ist auch insofern nicht ohne Interesse, als sie im Gegensatz zu den Vorstellungen, die O. Neubauer[1]) jüngst äußerte, darauf hinweist, daß α-Oxysäuren als normale intermediäre Abbauprodukte von Aminosäuren auftreten könnten.

---

[1]) O. Neubauer, Über den Abbau der Aminosäuren im gesunden und kranken Organismus. Deutsches Arch. f. klin. Med. 95, 211, 1909.

In einer früheren Arbeit konnte Embden[1]) zeigen, daß das natürlich vorkommende l-Leucin in einer Menge von 2 g die Acetessigsäurebildung bei der Leberdurchblutung nicht merklich beeinflußt, während die gleiche Quantität d-l-Leucin (und auch d-Leucin) eine mächtige Steigerung der Acetessigsäurebildung hervorruft. Bei Verwendung größerer Mengen von l-Leucin wirkt auch diese Substanz Acetessigsäure bildend.[2])

Es lag nun nahe, zu versuchen, ob sich ähnliche Unterschiede wie in dem Verhalten der optisch isomeren Leucine auch in demjenigen der optisch isomeren Leucinsäuren kundgeben würden. Wir sahen bereits oben, daß aus 2 g l-Leucinsäure ebenso wie aus 2 g d-l-Leucinsäure Acetessigsäure gebildet wird.

In weiteren Versuchen bemühten wir uns, festzustellen, ob bei einer Verringerung der dem Durchblutungsblute zugesetzten Mengen Leucinsäure sich ein Unterschied in dem Verhalten der l-Leucinsäure und der d-l-Leucinsäure ergeben würde.

Diese Versuche sind in Tabelle II (Versuch 11 bis 16) zusammengestellt.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6
Nr. d. Vers.	Dem Durchblutungsblute zugefügte Substanz	Dauer der Durchblutung Min.	Acetonbildung pro Liter Blut mg	Menge des Acetons aus Acetessigsäure im Blute nach der Durchblutung pro Liter mg	Bemerkungen
11	1 g l-Leucinsäure mit NH_3 neutralisiert	60	46	41	
12	Dasselbe	60	42	—	
13	0,5 g derselben Substanz mit NH_3 neutral.	75	34	—	Nach 60 Minuten Acetonbildung pro Lit. 32 mg
14	0,5 g derselben Substanz mit NH_3 neutral.	60	31	—	
15	1 g d-l-Leucinsäure mit NH_3 neutralisiert	60	41	—	
16	0,5 g derselben Substanz mit NH_3 neutral.	60	42	—	

[1]) Embden, Über das Verhalten der optisch isomeren Leucine in der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 348, 1908.

[2]) Wodurch L. Blum neuerlich bei einer Wiederholung der Versuche Embdens mit l-Leucin und d-l-Leucin zu abweichenden Resultaten kam, entzieht sich unserer Kenntnis.

Bezüglich der l-Leucinsäure zeigt sich, daß 1 g dieser Substanz noch gerade deutlich vermehrte Acetessigsäurebildung hervorruft (Tabelle II, Versuch 11 und 12), während bei Verwendung von 0,5 g die Steigerung der Acetessigsäurebildung kaum noch merklich ist (Versuch 13 und 14). Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei der d-l-Leucinsäure, von der 1 g und ebenso 0,5 g (Versuch 15 und 16) eine noch gerade erkennbare Vermehrung der Acetessigsäurebildung in der Leber verursachen.

Ein deutlicher Unterschied in dem Verhalten der l-Leucinsäure und der d-l-Leucinsäure in der Leber ist demnach nicht festzustellen.

Das im Gegensatz hierzu so deutlich verschiedene Verhalten des l-Leucins und des d-l-Leucins ist demnach an das Vorhandensein der Aminogruppe gebunden.

Über Acetessigsäurebildung in der Leber diabetischer Hunde.

II. Mitteilung.

Von

Walter Griesbach.

(Aus dem städt. chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 7. Juni 1910.)

In einer voranstehenden Arbeit von Embden und Wirth[1]) ist dargelegt, daß sich die Acetessigsäurebildung aus Fettsäuren und Aminosäuren in der überlebenden Hundeleber durch Zusatz bestimmter, nicht Acetessigsäure bildender Substanzen mehr oder weniger hemmend beeinflussen läßt.

Bei dem Versuch, diese Wirkung zu erklären, war auf den Einwand hingewiesen worden, daß möglicherweise die nicht Acetessigsäure bildenden Substanzen, wie n-Valeriansäure, Amino-n-Capronsäure, Isobutylessigsäure, ihren hemmenden Einfluß auf die genannte Acetessigsäurebildung durch eine Giftwirkung auf die Leberzelle im Sinne einer Lähmung ihrer Funktionen bedingen könnten. Dieser Einwurf hatte von vornherein wenig Wahrscheinlichkeit für sich, da nach früheren Versuchen von Embden und Marx[2]) die n-Valeriansäure, also diejenige Substanz, die sich in der erwähnten vorstehenden Arbeit als am stärksten hemmend erwiesen hatte, nicht imstande war, bei alleinigem Zusatz zum Durchblutungsblute die Acetessigsäurebildung in der überlebenden Hundeleber unter den Wert, den man bei Durchblutung ohne jeden Zusatz erhält (12 bis 27 mg),

[1]) Embden und Wirth, Über Hemmung der Acetessigsäurebildung in der Leber. Diese Zeitschr. 27, 1, 1910.

[2]) Embden und Marx, Über Acetonbildung in der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 318, 1908.

herabzudrücken. In zwei Versuchen der Arbeit von Embden und Marx, in denen dem Durchblutungsblute je 2 g n-Valeriansäure zugefügt wurden, betrug die Acetonbildung pro Liter 19 bis 21 mg. Immerhin läßt sich noch einwenden, daß die verwandte Menge n-Valeriansäure von 2 g eine zu geringe sei, um einen schädigenden Einfluß auf die Leberzelle auszuüben. Es war daher erwünscht, Versuche mit größeren Mengen von n-Valeriansäure auszuführen, und zwar nicht an der normalen Leber, sondern an derjenigen pankreasloser oder phlorizinvergifteter Hunde, von der durch die Versuche von Embden und Lattes[1]) bekannt ist, daß sie weit größere Acetonmengen als die normale Leber bildet.

Zu meinen Versuchen (s. Tabelle) wurden ein pankreasloser und vier phlorizinvergiftete Hunde verwendet. Keiner der Hunde hatte gefiebert; keiner erhielt nach der Pankreasexstirpation bzw. nach Beginn der Phlorizinvergiftung Nahrung. Alle Hunde schieden reichlich Zucker und außerdem auch Acetessigsäure im Harn aus. Die Durchblutung und Acetonbestimmung erfolgte wie früher von Embden und Kalberlah angegeben. Die Versuche sind in der untenstehenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Bemerkung
1	230	1600	60	5 g n-Valeriansäure m. NH_3 neutralisiert	78	Pankreasloser Hund † am 3. Tag nach der Operation
2	225	1600	60	6 g n-Valeriansäure mit NaOH neutralisiert	196	Phlorizinhund
3	200	1600	60	6 g n-Valeriansäure m. NH_3 neutralisiert	64	„
4	270	1600	60	Dasselbe	53	„
5	305	1600	60	Dasselbe	65	„

[1]) Embden und Lattes, Über die Acetessigsäurebildung in der Leber des diabetischen Hundes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 327, 1908.

In Versuch 1 wurde die Leber eines pankreaslosen Hundes mit 5 g n-Valeriansäure durchblutet. Die gebildete Menge von 78 mg Aceton pro Liter des Durchblutungsblutes entspricht durchaus den von Embden und Lattes bei Durchblutung der Leber von pankreaslosen Hunden ohne jeden Zusatz erhaltenen Werten von 139, 122 und 71 mg pro Liter.

Versuch 2 bis 5 sind an vier phlorizinvergifteten Hunden unter Zusatz von 6 g n-Valeriansäure vorgenommen. Die erhaltenen Werte von 196, 64, 53, 65 mg Aceton weisen kaum größere Schwankungen auf, als die von den genannten Autoren bei der Durchblutung von Lebern phlorizinvergifteter Hunde ohne jeden Zusatz gewonnenen Werte von: 68, 106, 131 mg.

Nach diesen Versuchen vermag also die n-Valeriansäure, in Mengen von 5 bis 6 g dem Durchblutungsblute zugesetzt, die gesteigerte Acetessigsäurebildung in der isolierten Leber pankreasloser oder phlorizinvergifteter Hunde nicht in merklicher Weise hemmend zu beeinflussen. Eine Giftwirkung auf die Leberzelle durch die genannte Substanz ist damit ausgeschlossen.

Daß die n-Valeriansäure auch in der Leber pankreasloser oder phlorizinvergifteter Hunde verbrannt wird, dafür spricht ihre chemische Zusammensetzung, die sie zwischen die verbrennliche Buttersäure und Capronsäure stellt. Während nun in der normalen Hundeleber die n-Valeriansäure die vermehrte Acetessigsäurebildung aus Isovaleriansäure, Capronsäure und Leucinsäure zu hemmen vermag, gelingt eine Hemmung der gesteigerten Acetessigsäurebildung in der Leber pankreasloser oder phlorizinvergifteter Hunde nicht. Man könnte daraus schließen, daß es sich bei diesen Diabetesformen um eine noch unbekannte Muttersubstanz der Acetessigsäure handelt, auf die die gleichzeitige Verbrennung der n-Valeriansäure ohne hemmenden Einfluß ist, oder daß eine spezifische Störung der Funktion der einzelnen Leberzelle vorliegt, die auf noch unbekanntem Wege diese großen Acetessigsäuremengen bildet. Eine andere Erklärung ist aber einfacher und durch Tatsachen gestützt: Die Leber pankreasloser oder phlorizinvergifteter Hunde ist nämlich, wie schon der makroskopische Anblick lehrt und durch chemische Untersuchungen bekanntlich des öfteren festgestellt

ist, schwer verfettet. Gleichwie nun, wie in der Arbeit von Embden und Wirth dargelegt ist, in den Leberzellen abgelagertes Glykogen viel leichter verbrennlich ist, als ein dem Durchblutungsblute zugefügtes Kohlenhydrat, z. B. Traubenzucker, so auch die der Zelle unmittelbar zur Verfügung stehenden, in ihr abgelagerten Fettsäuren. Diese intracellulär abgelagerten Substanzen verbrennen so leicht — unter Acetessigsäurebildung —, daß daneben die gleichzeitige Verbrennung der den Zellen von außen zugeführten n-Valeriansäure einen merklich hemmenden Einfluß nicht auszuüben vermag.

Beiträge zur allgemeinen Eiweißchemie. I.

Die Koagulation des denaturierten Albumins als Funktion der Wasserstoffionenkonzentration und der Salze.

Von

Leonor Michaelis und Peter Rona.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 10. Mai 1910.)

Aus kürzlich mitgeteilten Untersuchungen ergibt sich, daß der von Hardy sogenannte isoelektrische Punkt des Serumalbumins nicht der neutralen, sondern einer schwach sauren Reaktion ganz bestimmten Grades entspricht.[1]) Dies wurde zunächst durch Überführungsversuche erwiesen. Weiterhin ergab sich, daß dieselbe schwach saure Reaktion die günstigste Bedingung für die Ausflockung des durch Hitze denaturierten Albumins darstellt. Der Zusammenhang zwischen diesen beiden Erscheinungen wird durch Heranziehung der Helmholtz-Bredigschen Theorie über die Beziehung der Oberflächenspannung zur elektrischen Ladung vermittelt: die suspendierten Albuminteilchen haben im isoelektrischen Punkt, d. h. wenn sie in einer Lösung von jener genau definierten H-Ionenkonzentration sich befinden, die elektrische Ladung Null, daher hat ihre Oberflächenspannung ein Maximum, und die Bedingungen für die Ausflockung, die ja auf einer Oberflächenkontraktion beruht, sind im isoelektrischen Punkt die günstigsten. Wir besitzen also jetzt zwei voneinander ganz unabhängige Methoden zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes der Eiweißkörper: die Überführung im Stromgefälle unter verschiedenen Aciditätsbedingungen und die Bestimmung des Koagulationsoptimums bei wechselnder Acidität. Von diesen beiden Methoden erreicht die erste keinen sehr hohen Grad von Genauigkeit, weil es

[1]) Diese Zeitschr. 24, 79, 1910.

nicht möglich ist, die Reaktion einer Flüssigkeit unter der Wirkung des elektrischen Stromes auf längere Zeit absolut konstant zu halten. Wenn auch die angegebene Methodik, die Benutzung unpolarisierbarer Elektroden und der Reaktionsregulatoren, als ein erheblicher Fortschritt gegen die frühere zu betrachten ist, so hat doch die Genauigkeit ihre Grenze, weil nach längerem Stromdurchgang geringe Änderungen der Acidität der Lösungen nicht ganz zu vermeiden sind. Von diesem Fehler ist die zweite Methode ganz frei. Da es sich nun herausgestellt hat, daß, soweit überhaupt erkennbar, eine vollkommene Übereinstimmung der Resultate nach beiden Methoden erhalten wird, so werden wir in Zukunft der schärferen Methode, der Bestimmung des Koagulationsoptimums, das größere Gewicht beilegen dürfen.

Diese Methode besteht in folgendem: Dialysiertes Albumin wird durch Kochen denaturiert. Es bildet dann bei einer bestimmten Verdünnung eine trübe, aber nicht zur Sedimentierung zu bringende Suspension. Nach dem Abkühlen wird das denaturierte Albumin mit verschiedenen Reaktionsregulatoren versetzt, die der Lösung eine genau berechenbare H-Ionenkonzentration erteilen, die nach Bedarf auch durch Konzentrationsketten in jedem Falle nachgeprüft werden kann.

Von den verschiedenen Regulatorgemischen wird dasjenige ausprobiert, bei dem die Koagulation, die Flockenbildung und Sedimentierung des Eiweißes, am schnellsten eintritt. Als Regulatoren erwiesen sich für den vorliegenden Fall am besten Gemische von Essigsäure mit Natriumacetat, weil diese gerade das in Betracht kommende Gebiet der H-Ionenkonzentrationen umspannen.

Die Methode gestaltet sich demnach folgendermaßen: In eine Reihe von Reagensgläsern werden verschiedene Gemische von Essigsäure und Natriumacetat eingefüllt; das Verhältnis von Essigsäure zu Natriumacetat (in molaren Mengen) variiert etwa von 10:1 bis 1:10 oder noch weiter. Die Abstufung von einer Röhre zur anderen wird so eingerichtet, daß die Essigsäuremengen und somit auch die H-Ionenkonzentrationen in geometrischen Reihen zunehmen, damit der Sprung von einem Röhrchen zu dem nächst benachbarten überall in der Reihe dieselbe Bedeutung habe. Die Feinheit des Versuchs wird durch die Feinheit der geometrischen Reihe variiert, zunächst werden gröbere Reihen angesetzt, bei denen die benachbarten

Glieder sich um das Doppelte der H-Ionenkonzentrationen unterscheiden, dann zu immer feineren Reihen vorgeschritten, so lange, bis es überhaupt noch möglich ist, einen Unterschied zwischen zwei benachbarten Gliedern festzustellen.

Als die praktisch brauchbarsten erwiesen sich Reihen mit dem Exponenten 0,8. Bei Reihen mit dem Exponenten 0,9 ließ sich das Optimum nicht mehr scharf auf ein einziges Röhrchen beschränken.

Wenn die verschiedenen Regulationsgemische in die Röhrchen eingefüllt sind, wird mit Wasser überall ein gleiches Volumen hergestellt, und überall ein gleiches Volumen der Eiweißlösung zugefügt. Jetzt wird die Reihe genau beobachtet. Hat man die Konzentration des Albumins günstig getroffen, so bemerkt man sofort oder nach einigen Minuten, bei sehr geringem Eiweißzusatz manchmal erst viel später, daß ein Röhrchen der Reihe trüber wird. Eine gewisse Zeit danach erst werden auch die Nachbarglieder rechts und links trüber, dagegen ändern die von dem zuerst getrübten Röhrchen entfernteren ihre anfängliche Trübung sehr langsam oder sogar überhaupt nicht. Nach einiger Zeit entstehen in dem zuerst getrübten Röhrchen Flocken, die weiterhin zu sedimentieren beginnen. Wenn die Sedimentierung hier schon merklich fortgeschritten ist, beginnen in den Nachbarröhrchen Flocken aufzutreten, die weiterhin auch sedimentieren, oder, weiter entfernt von dem zuerst flockenden Röhrchen, überhaupt nicht mehr sedimentieren.

So gelingt es also, ein einziges Röhrchen anzugeben, bei dem die Koagulationsgeschwindigkeit am größten ist. Manchmal wird man zwei benachbarte Röhrchen in der Koagulationsgeschwindigkeit nicht unterscheiden können, wenn die geometrische Reihe fein genug abgestuft ist, aber immer ist das Optimum deutlich zu erkennen, d. h. auf ein Röhrchen beschränkt oder durch Interpolation in die Mitte zweier Röhrchen zu legen.

Diese außerordentlich einfache Methode hat nun noch eine Fehlerquelle, die in der früheren Arbeit noch nicht genügend erkannt wurde. Es wurde nämlich schon gezeigt, daß die Koagulationsgeschwindigkeit außer von der H-Ionenkonzentration auch noch vom Salzgehalt der Lösung abhängt.

Wenn man zu einer solchen Reihe überall die gleiche Menge ClNa zugibt, so ändert sich die absolute Koagulationsgeschwindigkeit; wir werden unten näher erörtern, in welchem Sinne. Aber das Optimum der Koagulationsgeschwindigkeit innerhalb einer Reihe mit gleichem ClNa-Gehalt und wechselnder H-Ionenkonzentration liegt stets bei genau der gleichen H-Ionenkonzentration. Daraus folgt, daß die Koagulationsgeschwindigkeit erstens eine Funktion der H-Ionenkonzentration, zweitens eine Funktion des Salzgehaltes ist. Wenn man daher, wie wir es zunächst wollten, die Koagulationsgeschwindigkeit als Funktion der H-Ionenkonzentration darstellen will, so muß man den Salzgehalt der Röhrchen innerhalb einer Reihe genau gleich bemessen.

Das wurde in der ersten Mitteilung über diesen Gegenstand nicht ganz streng beachtet. Um nämlich die H-Ionenkonzentration zu variieren, muß das Verhältnis von Essigsäure zu Natriumacetat variiert werden. Das kann man auf zweierlei Weisen. Entweder hält man die Menge der Essigsäure konstant und variiert das Natriumacetat, oder man hält das Natriumacetat konstant und variiert die Essigsäure. Variiert man das Natriumacetat, so ändert man gleichzeitig den Salzgehalt der Lösung. Dieses früher von uns meist benutzte Verfahren schließt also einen Fehler in sich. Dagegen ist es völlig einwandfrei, wenn man nur die Essigsäure variiert. Diese ist nämlich stets so außerordentlich wenig dissoziiert, daß man die Gesamtmenge der Ionen der Lösung kaum meßbar verändert, wenn man die Essigsäure noch so weit variiert. Man fügt gleichsam einen Nichtelektrolyten hinzu, wenn man Essigsäure zugibt. Wir werden weiterhin die an sich schon wahrscheinliche Tatsache experimentell erweisen, daß den Nichtelektrolyten in den hier in Betracht kommenden Konzentrationen überhaupt kein Einfluß auf die Koagulation des Albumins zukommt.

Will man also in einer Reihe praktisch nichts weiter variieren als die Konzentration der H-Ionen, so muß man die Menge des Natriumacetats konstant halten und die Menge der Essigsäure variieren.

Es soll nun an einem Beispiel eine derartige Reihe genau beschrieben werden, damit in den anderen Beispielen eine etwas abgekürzte Ausdrucksweise in richtigem Sinne verstanden werde:

Röhrchen Nr.		*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*
$^n/_3$-Na-Acetat	ccm	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
$^n/_{30}$-Essigsäure	„	8,9	6,1	4,9	3,9	3,1	2,5	2,0	1,6	1,3	1,02
		Geometrische Reihe! Jedes folgende Glied entsteht aus dem vorangehenden durch Multiplikation mit 0,8.									
Wasser (zur Auffüllung auf gleiches Volumen)	„	0,1	2,9	4,1	5,1	5,9	6,5	7,0	7,4	7,7	7,98
Gekochte Pferdeserum-Albuminlösung von ca. 1% Gehalt, völlig salzfrei, auf Zimmertemp. abgekühlt	„	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Verlauf des Versuches: Zunächst zeigen alle Röhrchen gleichmäßig eine geringe Opalescenz. Nach 3 Minuten hebt sich Röhrchen Nr. 7 durch stärkere Trübung ab. Im Laufe der nächsten Viertelstunde beginnen sich auch rechts und links die benachbarten Röhrchen etwas zu trüben. Nach einer halben Stunde sind in Nr. 7 Flocken, die sich allmählich sedimentieren. Die überstehende Flüssigkeit wird klar. Die Flockenbildung tritt 5 Minuten später auch bei Röhrchen 8, dann noch später in 9, dann in 6, dann in 10 auf. Die Flockenbildungsgeschwindigkeit ist also nicht ganz symmetrisch um das Röhrchen 7 gruppiert, sondern nimmt nach rechts, mit fallender Acidität, allmählicher ab als nach links. Diese merkwürdige, konstante Erscheinung soll hier zunächst nur konstatiert werden. Weiter als über die genannten Röhrchen erstreckt sich die Flockenbildung selbst in 24 Stunden nicht. Das Optimum der Koagulation stellt somit das Röhrchen 7 dar. Die H-Ionenkonzentration läßt sich hier erstens berechnen nach der Formel

$$[H^{\cdot}] = 1{,}8 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{[\text{Essigsäure}]}{[\text{Natriumacetat}]}$$

Das Verhältnis von Essigsäure zu Natriumacetat beträgt hier 1:5, die H-Ionenkonzentration also $0{,}36 \cdot 10^{-5}$. In dem benachbarten Röhrchen rechts beträgt sie $0{,}29 \cdot 10^{-5}$, in dem benachbarten Röhrchen links $0{,}45 \cdot 10^{-5}$. Es bedarf keiner Erörterung, daß der Fehler, der durch das Säurebindungsvermögen des Eiweißes entsteht, in Anbetracht der minimalen Mengen Eiweiß und der großen Mengen des Acetatgemisches zu vernachlässigen ist. Aber auch der Fehler, der durch die Annahme der totalen Dissoziation des Natriumacetats entsteht, ist zu vernachlässigen. Das Natriumacetat ist hier, auf das Gesamt-

volumen berechnet, in einer Konzentration von $^n/_{30}$ vorhanden und zu mindestens 90% dissoziiert. Der durch die Annahme totaler Dissoziation entstehende Fehler beträgt somit höchstens 10% des Gesamtwertes. Wir werden sehen, daß dieser Fehler, wenn man die Resultate verschiedener Versuche vergleicht, ins Bereich der Fehlergrenzen kommt, so daß man für gewöhnlich nicht nötig hat, hierauf Rücksicht zu nehmen.

Zur Kontrolle der Richtigkeit der Rechnung wird jetzt die H-Konzentration in dem Röhrchen 7 direkt mit Hilfe einer Konzentrationskette gemessen und in guter Übereinstimmung zu $0{,}41 \cdot 10^{-5}$ gefunden.[1])

Nach diesem Prinzip wurde nun die optimale Koagulationsacidität des denaturierten Serumalbumins an einer großen Zahl von Proben festgestellt.

Diese Versuche lehren nun folgendes:

1. Wenn man den Gesamtelektrolytgehalt innerhalb einer Reihe konstant hält, ist die Koagulationsgeschwindigkeit des denaturierten Albumins bei Zimmertemperatur eine reine Funktion der H-Ionenkonzentration. Die Menge des Albumins ist insofern von Einfluß, daß konzentriertere Aufschwemmungen schneller flocken; das Optimum der Flockung in bezug auf die H-Ionenkonzentration wird durch Änderung der Eiweißmenge nicht verschoben.

2. Das Koagulationsoptimum wird innerhalb einer Reihe auch nicht geändert, ob man mit konzentrierteren oder verdünnteren Acetatgemischen arbeitet.

So wurde, um nur zwei Beispiele anzuführen, in den folgenden Reihen mit verschiedenem Acetatgehalt das Fällungsoptimum identisch in bezug auf die H·-Konzentration gefunden.

1. Je 2 ccm $^n/_3$-Natriumacetat; $^n/_3$-Essigsäure *1.* 4,0, *2.* 2,0, *3.* 1,0, *4.* 0,5, *5.* 0,25, *6.* 0,125, *7.* 0,065 ccm; Wasser auf 6 ccm; Rinderalbumin (1:10) 10 ccm. Das Fällungsoptimum liegt zwischen Nr. *4* und *5* (H· zwischen $0{,}45 \cdot 10^{-5}$ und $0{,}22 \cdot 10^{-5}$).

2. Je 1,5 ccm $^n/_6$-Natriumacetat; $^n/_6$-Essigsäure *1.* 1,0, *2.* 0,7, *3.* 0,49, *4.* 0,34, *5.* 0,24, *6.* 0,17, *7.* 0,11 ccm; Wasser auf 2,5 ccm; Rinderalbumin (1:10) 10 ccm. Das Fällungsoptimum liegt bei Nr. *5* ($H· = 0{,}29 \cdot 10^{-5}$).

---

[1]) Alle Konzentrationsketten in dieser Arbeit wurden nach dem Schema Kalomel-Elektrode ($^n/_{10}$-KCl) | gesättigt. KCl | Acetatgemisch | PtH_2 angestellt. Das Kontaktpotential wurde als praktisch = 0 erwiesen (durch Ersatz der gesättigten KCl-Lösung durch 0,1 n KCl, ohne daß eine Änderung der EMK eintrat). Die Potentialdifferenz der Kalomelelektrode gegen die Normal-H·-Elektrode wurde als 0,3350 Volt in Rechnung gebracht.

In konzentrierteren Acetatgemischen ist die Flockung langsamer als in verdünnten (siehe unten), aber das Optimum innerhalb einer Reihe hängt nur von dem Verhältnis von Essigsäure zu Natriumacetat ab. Eine sehr große Variationsbreite steht uns experimentell hier allerdings nicht zur Verfügung. Geht man nämlich mit dem Gehalt der Lösung an Acetatgemisch extrem weit herunter, so ist die Regulierung der H-Ionenkonzentration nicht mehr so scharf, weil hier allmählich die unberechenbare Kohlensäure des Wassers und das Säurebindungsvermögen des Eiweißes zu stören beginnen. Und nach oben hin hat die Variationsbreite dadurch eine Grenze, daß in zu konzentrierten Acetatlösungen infolge der weiter zu besprechenden Salzhemmung überhaupt keine Koagulation mehr eintritt. Aber immerhin ist die Breite der Variation, die experimentell durchführbar ist, so groß, daß kein Zweifel an der Richtigkeit unserer Behauptung bestehen kann, daß das Optimum der Koagulation nur von der H-Ionenkonzentration abhängt.

Die Lage des Koagulationsoptimums ergibt sich aus den einzelnen Versuchen in folgender Weise:

Versuch Nr.	$\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Acetat}}$	$[H^{\cdot}]$
Pferd 1	$\frac{2,5}{10}$	$0,45 \cdot 10^{-5}$
„ 2	$\frac{0,40}{2}$ bis $\frac{0,32}{2}$	zwischen $0,36 \cdot 10^{-5}$ und $0,29 \cdot 10^{-5}$
„ 3	$\frac{2,0}{10}$	$0,36 \cdot 10^{-5}$
„ 4	$\frac{1,6}{10}$	$0,29 \cdot 10^{-5}$
„ 5	$\frac{2,0}{10}$ bis $\frac{1,6}{10}$	zwischen $0,36 \cdot 10^{-5}$ und $0,29 \cdot 10^{-5}$
„ 6	$\frac{0,25}{1}$ bis $\frac{0,12}{1}$	zwischen $0,45 \cdot 10^{-5}$ und $0,22 \cdot 10^{-5}$
„ 7	$\frac{2,0}{10}$	$0,36 \cdot 10^{-5}$
„ 8	$\frac{1,12}{6,0}$	$0,33 \cdot 10^{-5}$
Mensch 9	$\frac{2,0}{10}$	$0,36 \cdot 10^{-5}$
		Mittel $0,34 \cdot 10^{-5}$

Ziehen wir die oben erwähnten 10% des Gesamtwertes noch ab, so erhalten wir für die isoelektrische Konstante des Serumalbumins $J = 0{,}3_1 \cdot 10^{-5}$.

Hieraus ergibt sich nach der früher entwickelten Theorie für das Verhältnis der Säuren- und Basendissoziationskonstanten des Albumins für seine „relative Acidität"[1])

$$R = \frac{J^2}{k_w} = 1{,}6 \cdot 10^3.$$

Im einzelnen gestalteten sich diese Versuche folgendermaßen:

1. Serumalbumin vom Pferd.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
n/3-Natriumacetat	ccm	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00
n/30-Essigsäure	„	8,9	6,1	4,9	3,9	3,1	2,5	2,0	1,6	1,3	1,02
Wasser	„	0,1	2,9	4,1	5,1	5,9	6,5	7,0	7,4	7,7	7,98
Albumin (ca. 3‰)	„	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Optimum der Flockung: Nr. 6.

2. Serumalbumin vom Pferd.

		1	2	3	4	5	6	7	8
n/3-Natriumacetat	ccm	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
n/12-Essigsäure	„	0,98	0,78	0,62	0,50	0,40	0,32	0,26	0,20
Wasser	„	0,02	0,22	0,38	0,50	0,60	0,68	0,73	0,80
Albumin (1:3) ca. 3‰	„	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0

Optimum der Flockung: Nr. 5 und Nr. 6.

3. Serumalbumin vom Pferd.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
n/3-Natriumacetat	ccm	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
n/30-Essigsäure	„	8,9	6,1	4,9	3,9	3,1	2,5	2,0	1,6	1,3	1,02
Wasser	„	0,1	2,9	4,1	5,1	5,9	6,5	7,0	7,4	7,7	7,98
Albumin (1:3) ca. 3‰	„	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Optimum der Flockung: Nr. 7

4. Serumalbumin vom Pferd.

n/3-Natriumacetat je 1 ccm; n/30-Essigsäure: *1.* 4,9 *2.* 3,9 *3.* 3,1 *4.* 2,5 *5.* 2,0 *6.* 1,6 *7.* 1,3 *8.* 1,02 ccm. Mit Wasser auf 6 ccm aufgefüllt. Je 4 ccm Albumin (ca. 3‰).

Optimum der Flockung: Nr. 6.

5. Serumalbumin vom Pferd.

n/3-Natriumacetat je 1 ccm; n/30-Essigsäure: *1.* 4,9 *2.* 3,9 *3.* 3,1 *4.* 2,5 *5.* 2,0 *6.* 1,6 *7.* 1,3 *8.* 1,02 ccm. Mit Wasser aufgefüllt auf 6 ccm. Albumin (3‰) je 4 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. 5 und 6.

---

[1]) Diese Zeitschr. 19, 181, 1909.

6. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_3$-Natriumacetat je 1 ccm; $^n/_3$-Essigsäure: *1.* 2,0 *2.* 1,0 *3.* 0,5 *4.* 0,25 *5.* 0,12 *6.* 0,06 ccm. Wasser auf 9 ccm. Albumin (1%) je 1 ccm.

Optimum der Flockung bei Nr. 4 und 5.

7. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_3$-Natriumacetat je 1 ccm; $^n/_{30}$-Essigsäure: *1.* 1,12 *2.* 1,50 *3.* 2,0 *4.* 2,67 *5.* 3,56 ccm. Wasser auf 6 ccm. Albumin (3%) je 4 ccm.

Optimum der Flockung bei Nr. 3.

8. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_3$-Natriumacetat je 0,8 ccm; $^n/_{30}$-Essigsäure: *1.* 1,12 *2.* 1,50 *3.* 2,0 *4.* 2,67 *5.* 3,56 ccm. Wasser auf 9 ccm. Albumin (3%) je 1 ccm.

Optimum der Flockung bei Nr. 2.

9. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_3$-Natriumacetat je 0,6 ccm; $^n/_{30}$-Essigsäure: *1.* 1,12 *2.* 1,50 *3.* 2,0 *4.* 2,67 *5.* 3,56 ccm. Wasser auf 9 ccm. Albumin (3%) je 1 ccm.

Optimum der Flockung bei Nr. 1.

10. Serumalbumin vom Menschen.

$^n/_3$-Natriumacetat je 1 ccm; $^n/_{30}$-Essigsäure: *1.* 8,9 *2.* 6,1 *3.* 4,9 *4.* 3,9 *5.* 3,1 *6.* 2,5 *7.* 2,0 *8.* 1,6 *9.* 1,3 *10.* 1,02 ccm. Wasser auf 10 ccm. Albumin (ca. 3%) je 1 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. 7.

Zur weiteren Befestigung der Behauptung, daß nur die Konzentrationen der H-Ionen von Bedeutung seien, mußten nun andere Reaktionsregulatoren angewandt werden. Diese ließen sich theoretisch leicht konstruieren. Es brauchte nur eine Säure, deren Dissoziationskonstante ungefähr von gleicher Größenordnung war wie die der Essigsäure, mit ihrem Natriumsalz kombiniert zu werden. Die Auswahl brauchbarer, genügend löslicher Säuren ist aber nicht sehr groß. Wir mußten uns zunächst auf die Homologen der Essigsäure, Propionsäure [$K = 1{,}34 \cdot 10^{-5}$ bei 25° [1])] und Buttersäure [$K = 1{,}52 \cdot 10^{-5}$ [2]); $1{,}45 \cdot 10^{-5}$ [3]); $1{,}54 \cdot 10^{-5}$ [4]) bei 25°] beschränken, fanden dann aber schließlich in der Lävulinsäure [$K = 2{,}5 \cdot 10^{-5}$ bei 25° [5])]

[1]) E. Franke, Zeitschr. f. physikal. Chem. 16, 463, 1895.

[2]) E. Franke, Zeitschr. f. physikal. Chem. 16, 463, 1895.

[3]) E. Bauer, Zeitschr. f. physikal. Chem. 56, 215, 1906.

[4]) J. Billiter, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 1899, 416.

[5]) W. Ostwald, Zeitschr. f. physikal. Chem. 3, 193, 1889.

ebenfalls einen vorzüglichen Ersatz der Essigsäure, die den Vorteil bot, daß sie chemisch der Essigsäure recht unähnlich ist, da sie eine Ketosäure ist. Trotzdem war die für die Flockung optimale H-Ionenkonzentration unabhängig von der Art des Regulatorgemisches stets die gleiche.

Die Herstellung dieser Gemische fand nach demselben Prinzipe wie bei den Acetatgemischen statt. Die eine Stammlösung war eine $^n/_{10}$-Säure, die andere eine $^n/_2$-Lösung des Natriumsalzes, die auf folgende Weise hergestellt wurde: 20 ccm $^n/_1$-NaOH wurden erst mit der konzentrierten Säure, zum Schluß vorsichtig mit der $^n/_{10}$-Säure so lange versetzt, bis Phenolphthalein gerade entfärbt war, dann wurde die Lösung auf 60 ccm aufgefüllt.

Diese Versuche ergaben folgendes:

11. Lävulinsäurereihe. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_2$ lävulinsaures Natrium je 1 ccm, $^n/_{10}$-Lävulinsäure: *1.* 1,63 *2.* 1,30 *3.* 1,03 *4.* 0,83 *5.* 0,66 *6.* 0,53 *7.* 0,43 *8.* 0,34 *9.* 0,27 *10.* 0,22 *11.* 0,18 ccm. Wasser auf 2 ccm. Albumin (3‰) je 7 ccm.

Optimum der Fällung: Nr. *8.*

Gefunden $[H^{\cdot}] = 0{,}28 \cdot 10^{-5}$, berechnet $0{,}25 \cdot 10^{-5}$.

12. Propionsäurereihe. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_2$ propionsaures Natrium je 1 ccm; $^n/_{10}$-Propionsäure: *1.* 1,63 *2.* 1,30 *3.* 1,03 *4.* 0,83 *5.* 0,66 *6.* 0,53 *7.* 0,43 *8.* 0,34 *9.* 0,27 *10.* 0,22 *11.* 0,18 ccm. Wasser auf 2 ccm. Albumin (3‰) je 8 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. 3 und 4 ($0{,}43 \cdot 10^{-5}$ bzw. $0{,}35 \cdot 10^{-5}$).

13. Buttersäurereihe. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_2$ buttersaures Natrium je 1 ccm; $^n/_{10}$-Buttersäure: *1.* 1,63 *2.* 1,30 *3.* 1,03 *4.* 0,83 *5.* 0,66 *6.* 0,53 *7.* 0,43 *8.* 0,34 *9.* 0,27 *10.* 0,22 *11.* 0,18 ccm. Wasser auf 2 ccm. Albumin (ca. 3‰) je 8 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. *5* ($0{,}32 \cdot 10^{-5}$).

Wir finden somit das Flockungsoptimum:

für Acetatgemisch . . . . $0{,}34 \cdot 10^{-5}$
für Propionatgemisch . . . $0{,}37 \cdot 10^{-5}$
für Butyratgemisch . . . $0{,}32 \cdot 10^{-5}$
für Lävulinatgemisch . . . $0{,}28 \cdot 10^{-5}$

Die Übereinstimmung der optimalen H-Ionenkonzentrationen bei den verschiedenen Regulatorgemischen ist also praktisch vollkommen. Wir versuchten nun noch ferner, das Phosphatgemisch heranzuziehen. Das Resultat war folgendes:

$^n/_3$ prim. Phosphat je 1 ccm; $^n/_{30}$ sekund. Phosphat: *1.* 0,0 *2.* 0,1 *3.* 0,2 *4.* 0,4 *5.* 0,8 ccm. Wasser auf 2 ccm. Albumin (ca. 3‰) je 8 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. *2.*

Die optimale H-Ionenkonzentration liegt hier, wie zu erwarten war, ganz am Anfang der Reihe, fast bei reinem primärem Natriumphosphat. Nun haben wir schon darauf hingewiesen, daß die Regulatorengemische, die sehr extreme Mengenverhältnisse der beiden Komponenten enthalten, nicht gut verwendbar sind, weil in ihnen die H-Ionenkonzentration nicht mehr exakt zu definieren ist. Einerseits ist hier die H-Konzentration nicht mehr von der absoluten Menge des Regulators unabhängig, andererseits machen sich störende Einflüsse der Verunreinigungen in unberechenbarer Weise merklich geltend, und schließlich haben sehr geringe Änderungen der Zusammensetzung des Gemisches große Änderungen der H-Konzentration im Gefolge. Aber das jedenfalls stimmt mit der Erwartung vollkommen überein, daß eben die optimale H-Ionenkonzentration mit dem Phosphatgemisch nicht mehr mit Sicherheit herzustellen ist, denn das brauchbare Gebiet des Phosphatgemisches reicht allerhöchstens bis zu einer H-Konzentration von $0{,}6 \cdot 10^{-5}$ herauf.

Noch größere Schwierigkeiten macht das von Sörensen als Regulator empfohlene Citratgemisch. Verfahren wir genau nach der Methode von Sörensen, so finden wir die optimale H-Konzentration $= 2{,}8 \cdot 10^{-5}$ (Versuch 16). Bei diesem Verfahren ist es nun nicht möglich, die Gesamtmenge der Elektrolyte konstant zu halten. Wir versuchten deshalb, ähnlich wie bei den Phosphatgemischen, Gemische von primärem und sekundärem Natriumcitrat zu benutzen (Versuch 14 und 15).

14. Citratreihe. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_3$ primäres Citrat je 1 ccm; $^n/_3$ sekundäres Citrat: *1.* 0,25 *2.* 0,50 *3.* 1,0 *4.* 2,0 *5.* 4,0 ccm. Wasser auf 5 ccm. Albumin (ca. 3‰) je 7 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. *3* $(3.6 \cdot 10^{-5})$.[1])

15. Citratreihe. Serumalbumin vom Pferd.

$^n/_3$ primäres Citrat je 1 ccm; $^n/_{30}$ sekundäres Citrat: *1.* 0,25 *2.* 0,50 *3.* 1,0 *4.* 2,0 *5.* 4,0 ccm. Wasser auf 5 ccm. Albumin (ca. 3‰) je 5 ccm.

Optimum der Flockung: Nr. *4* $(2{,}4 \cdot 10^{-5})$.

[1]) Bei den Citratreihen sind alle Werte von $[H^{\cdot}]$ durch Konzentrationsketten direkt gemessen.

16. Citratreihe.

Gemisch von primärem Citrat mit HCl nach Sörensen. Optimum der Flockung gefunden bei $2{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Wir finden hier den von den früheren völlig abweichenden Wert von 2 bis $3 \cdot 10^{-5}$.

Nun haben die Flockungen, die in Citratreihen entstehen, schon bei der oberflächlichen Betrachtung ein ganz besonderes Verhalten. Sie haben nicht die feinflockige Beschaffenheit der anderen Koagulationen, sondern bilden grobe und massige Niederschläge. Es macht den Eindruck, als ob hier ein anderer Körper als sonst ausfiele. Es ist nun bei der großen Neigung der Citronensäure, undissoziierte Salze zu bilden, wohl möglich, daß hier gar nicht Albumin, sondern Albumincitrat ausfällt. Dann erhielten wir gar nicht die Fällungsbedingungen des reinen Albumins, sondern die des Albumincitrats. Dieses Gemisch ist also hier ebensowenig anwendbar, wie z. B. ein Gemisch von verschiedenen Mengen von Essigsäure und Ferrocyankalium zu brauchen wäre, obwohl an sich ein solches Gemisch als Reaktionsregulator ganz gut brauchbar wäre. Hier aber ist es unbrauchbar, denn es würde uns nur die Fällungsbedingungen des Albuminferrocyanats, nicht aber die des Albumins anzeigen.

Bei Acetatgemischen fällt diese Schwierigkeit fort, sei es, weil sich undissoziiertes Albuminacetat nur wenig bildet, oder sei es, daß dieses überhaupt nicht ausflockt, sondern löslich ist.

Der Einfluß der Neutralsalze. Fügt man zu einem Regulatorgemisch ein Neutralsalz, so wird in der Regel die H-Ionenkonzentration äußerst wenig geändert, so wenig, daß es für unsere Versuche gar nicht in Betracht kommt. Fügt man z. B. zu einem Gemisch von Essigsäure und Natriumacetat noch ClNa, so hat dieses nur insofern einen Einfluß, als durch das ClNa die Dissoziation des Natriumacetats ein klein wenig herabgedrückt wird, und daher die Konzentration der Acetationen etwas vermindert wird. Um die Acetationen in einem Gemisch nur um $^1/_{10}$ ihres Betrages zu vermindern, brauchte man schon einen ganz bedeutenden Überschuß von ClNa, und daher hat für die von uns erreichbare Genauigkeit die Zufügung von Neutralsalzen so gut wie gar keinen Einfluß.

Trotzdem haben die Neutralsalze einen sehr erheblichen Einfluß auf die Koagulation des denaturierten Albumins, und zwar umgekehrt, als man unbefangen wohl erwartet hätte: sie hemmen die Flockung sehr merklich.

Das macht sich sowohl dann bemerkbar, wenn man zu einem schwachen Acetatgemisch ClNa, JNa, ClLi, ClK hinzufügt, als auch wenn man mit einem starken Acetatgemisch von vorneherein arbeitet. Stets ist die Flockung um so energischer, je salzärmer das Gemisch ist. Der verzögernde Einfluß des ClNa und der anderen Salze macht sich in gleicher Weise schon in einer Konzentration von $^n/_{100}$ spurweise, bei $^n/_{10}$ sehr stark bemerkbar. In noch höheren Salzlösungen unterbleibt die Flockung, wenigstens in der Kälte, vollkommen. Wo aber die Flockung eintritt, oder wo nur ein Unterschied in der Opaleszenz innerhalb der Reihe bemerkbar ist, liegt dieses Optimum immer bei der gleichen H-Ionenkonzentration von $0{,}3 \cdot 10^{-5}$.

Eine Reihe aus je 0,5 ccm $^n/_3$-Natriumacetat wird mit bzw. *1.* 0,62, *2.* 0,50, *3.* 0,40 ccm $^n/_{12}$-Essigsäure versetzt, auf 1,12 ccm mit Wasser aufgefüllt. Die Mischung wird vor dem Zusatz von 8 ccm gekochtem Serumalbumin vom Pferd, *1.* mit je 1 ccm Wasser, *2.* mit je 1 ccm $^n/_{100}$-KCl, *3.* mit je 1 ccm $^n/_{10}$-KCl, *4.* mit je 1 ccm $^n/_1$-KCl versetzt. — In der 1. Reihe (ohne KCl) ist nach 1 Stunde starke Flockung in der Röhre *3*, etwas schwächere in der Röhre *2*, noch schwächere in der Röhre *1*. — Ebenso sind die Verhältnisse in der Reihe mit $^n/_{100}$-KCl. — In der Reihe mit $^n/_{10}$-KCl nach 1 Stunde noch keine Flockung, nach 2 Stunden ausgesprochene Flockung nur in der Röhre *3*, nach 24 Stunden in Röhre *1* auch nur schwache Flockung. — In der Reihe mit $^n/_1$-KCl in allen 3 Röhren auch nach 24 Stunden keine Flockung.

Ganz ebenso liegen die Verhältnisse mit NaCl und LiCl. Die Versuchsprotokolle lauten mutatis mutandis mit den vorigen absolut gleich.

Die Erklärung dieser Salzwirkung ist schwierig. Die Flockungsgeschwindigkeit hängt von verschiedenen Faktoren ab: vom spezifischen Gewicht der Flüssigkeit, von der inneren Reibung der Flüssigkeit, von der Oberflächenspannung an der Grenzfläche der dispersen Phase gegen die Flüssigkeit, und diese wiederum von der elektrischen Potentialdifferenz der dispersen Phase gegen die Flüssigkeit. Die geringen Änderungen der inneren Reibung und des spezifischen Gewichtes, die die Salze veranlassen könnten, kommen hier nicht in Betracht; denn Nicht-

elektrolyte haben unter gleichen Bedingungen keinen erkennbaren Einfluß auf die Koagulationsgeschwindigkeit, wie wir sogleich am Zucker zeigen werden. Man ist daher zuerst versucht, an einen Einfluß der Salze auf die Potentialdifferenz zu denken. Aber schon der Umstand, daß das Flockungsoptimum auch bei Salzzusatz immer bei derselben H-Ionenkonzentration liegt, zeigt, daß wenigstens der Nullwert der elektrischen Ladung unabhängig von der Gegenwart von Salz ist. Besonders angestellte Überführungsversuche lehrten das ebenfalls. Es wurden nämlich Mischungen, die so viel Salz enthielten, daß selbst im isoelektrischen Punkte keine deutliche Koagulation mehr eintrat, zu Überführungsversuchen in der früher[1]) beschriebenen Weise benutzt, und es zeigte sich, daß der isoelektrische Punkt innerhalb der Fehlerquellen der Überführungsmethode durchaus der gleiche war wie ohne Salzzusatz.

Bei Überführungsversuchen mit denaturiertem Albumin wanderte das Gemisch:

1,5 ccm $^n/_3$-Natriumacetat, 3,0 ccm $^n/_{12}$-Essigsäure, 3 ccm $^n/_1$-KCl, 24 ccm Albumin (1 %) **kathodisch**. ($0{,}9 \cdot 10^{-5}$.)

1,5 ccm $^n/_3$-Natriumacetat, 0,3 ccm $^n/_{12}$-Essigsäure, 3 ccm $^n/_1$-KCl, 24 ccm Albumin (1 %) **anodisch**. ($0{,}9 \cdot 10^{-6}$.)

Das Gemisch 1,5 ccm $^n/_3$-Na-Acetat, 0,17 ccm $^n/_{12}$-Essigsäure, 3,0 ccm KCl, 24 ccm Albumin wandert **anodisch**. ($0{,}5 \cdot 10^{-6}$.)

Das Gemisch 1,5 ccm $^n/_3$-Na-Acetat, 2,4 ccm $^n/_{12}$-Essigsäure, 3,0 ccm KCl, 24 ccm Albumin zeigt keine sichere Wanderung. ($0{,}7 \cdot 10^{-5}$.)

(Als Seitenflüssigkeiten dienten dieselben Flüssigkeiten mit Wasser statt Albuminlösung.)

Da die Salze die Potentialdifferenz der dispersen Phase nicht ändern, ist wohl daran zu denken, daß sie die **mechanische** Oberflächenspannung der dispersen Phase gegen die Flüssigkeit vermindern.

Jedoch soll auf diese Theorie hier noch nicht näher eingegangen werden. Nur auf die Analogie mit den Globulinen sei hingewiesen, die in dieser Hinsicht sich wie denaturiertes Albumin verhalten: die Flockung wird durch Salzzusatz gehemmt, die Salze befördern bis zu einer gewissen Konzentration die Lösung.

Die beschriebene Hemmung der Neutralsalze besteht übrigens nur in der Kälte. In der Hitze koagulieren solche durch Salz an

[1]) Diese Zeitschr. 16, 81, 1909; 24, 79, 1910.

der Flockung gehemmten Gemische leicht, wie es uns scheint, sogar schneller als ohne Salz. Auch dieser Punkt bedarf noch weiterer Untersuchung.

Der Einfluß der Nichtelektrolyte. Als brauchbarster Nichtelektrolyt wurde Traubenzucker benutzt. Er hat in solchen Konzentrationen, wo ClNa schon die Flockung ganz unterdrückt, überhaupt keinen sichtbaren Einfluß auf die Flockung, d. h. die Flockung verläuft in Acetatgemischen mit oder ohne Traubenzucker ganz gleich.

In einer Reihe mit 0,5 ccm $^n/_3$-Natriumacetat, 0,4 ccm $^n/_{12}$-Essigsäure und 8 ccm Albumin wurden bzw. 1,0, 0,5 und 0 ccm $^n/_1$-Traubenzuckerlösung hinzugefügt, das Volumen mit Wasser überall gleich gemacht. Die Flockung erfolgt in allen 3 Röhren zu gleicher Zeit.

Zusammenfassung.

Die isoelektrische Konstante des Serumalbumins beträgt $0{,}3 \cdot 10^{-5}$, die relative Acidität des Serumalbumins $1{,}6 \cdot 10^3$.

Die Flockungsgeschwindigkeit des denaturierten Albumins ist erstens eine Funktion der $H^{\cdot}$-Ionen, zweitens eine Funktion des Gesamtelektrolytgehaltes der Lösung.

Die Flockungsgeschwindigkeit hat ein Maximum, wenn die $H^{\cdot}$-Konzentration gleich der isoelektrischen Konstanten ist; sie ist um so größer, je ärmer die Lösung an Elektrolyten überhaupt ist.

Über den Glykogengehalt der Tunicaten nebst Versuchen über die Bedeutung des Eisens für die quantitative Glykogenbestimmung.

Von

Emil Starkenstein.

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 13. Mai 1910.)

Das Bedürfnis, die Lehre vom Kohlenhydratstoffwechsel auf vergleichender Basis aufzubauen, besteht seit den Zeiten Claude Bernards, der bereits eine Reihe niederer Tiere auf ihren Glykogengehalt prüfte. Derartige Untersuchungen wurden seither von zahlreichen Autoren weitergeführt.

Noch in eine Zeit vor der Entdeckung des Glykogens fällt die Entdeckung der tierischen Cellulose bei den Tunicaten durch Schmidt (1845), ein Ereignis, das damals großes Aufsehen erregte und geeignet erschien, die Grenzen zwischen Pflanzen- und Tierreich zu verwischen, bzw. Gegensätze zu überbrücken. Heute hat das Vorkommen von Cellulose bei Tieren nur die Bedeutung, daß wir diese Substanz nicht ausschließlich auf das Pflanzenreich beschränkt hinstellen können, zur Abgrenzung der Stammesverwandtschaft jedoch ist es kein genügendes Moment.

Die Frage nach der Bedeutung der tierischen Cellulose ist heute noch immer eine offene Frage der Kohlenhydratchemie.[1]) Die diesbezüglichen Arbeiten beschäftigen sich nur damit, festzustellen, inwieweit tierische und pflanzliche Zellulose identisch wären. Während Berthelot gegen eine derartige Identität Bedenken äußerte und für die tierische Cellulose den Namen Tunicin vorschlug, ergaben die weiteren Untersuchungen hinsichtlich des Verhaltens der beiden Substanzen zu Säuren und Laugen, zur Jod-Schwefelsäurereaktion, zur Löslichkeit im Schweizer-

[1]) Vgl. hierzu: Bronns, Klassen und Ordnungen der Tierreichs; Seeliger, Tunicata und v. Fürth, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, S. 467.

schen Reagens sowie hinsichtlich der Elementaranalyse vollkommen gleiches Verhalten.

Auf Grund genauer Untersuchungen über die Hydrolyseprodukte der tierischen Cellulose kam schließlich Winterstein[1]) zu dem Schlusse, daß das Tunicin der pflanzlichen Cellulose sehr nahe verwandt sei, vielleicht sogar mit ihr identisch.

Was die Frage der Herkunft und Bedeutung der Cellulose im Tunicatenmantel betrifft, so beantworten dies Löwig und Kölliker damit, daß diese Tiere sehr reichlich Pflanzennahrung genießen und mit dieser also direkt Cellulose aufnehmen. Die mit der Nahrung aufgenommene Cellulose verwandelt sich wahrscheinlich in Zucker oder Gummi, zirkuliert so im Blute, um aus diesem im Mantel wiederum als Cellulose ausgeschieden zu werden.

Das Interessanteste aller dieser Untersuchungen ist wohl die Feststellung der Tatsache, daß bei diesen Tieren ein Polysaccharid in Form der Cellulose vorkommt. Dies regt an, zu untersuchen, 1. ob die Cellulose bei den Tunicaten analog anderen Polysacchariden (Stärke, Glykogen) einen Reservestoff darstellt und direkt am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt ist; 2. ob sie in den parenchymatösen Organen vorkommt; 3. ob neben ihr noch eins der anderen Polysaccharide in den Organen oder im Mantel vorhanden ist; 4. ob sich im Darm oder im Mantel dieser Tiere eine Cellulase nachweisen läßt; 5. ob der Mantel ein Ferment enthält, das imstande ist, Glykogen in Cellulose umzuwandeln.

Da ich trotz der zahlreichen Glykogenuntersuchungen, die bei niederen Tieren vorgenommen wurden, keine Angaben über das Vorhandensein dieser Substanz bei den Tunicaten vorfand und ich die Beziehungen zwischen Cellulose und Glykogen feststellen wollte, bewegten sich meine Untersuchungen vor allem in der Richtung der Glykogenbestimmung.

Zu den Untersuchungen wurde vorwiegend die Ascidie Phalusia mamillata verwendet. Der Glykogennachweis wurde nach der Pflügerschen Methode geführt, und zwar in der zuletzt angegebenen Modifikation.[2])

Anfangs wurden die ganzen Tiere untersucht, später, nachdem es sich gezeigt hatte, daß der Mantel kein Glykogen enthielt, bloß die Organe.

---

[1]) Winterstein, Zur Kenntnis der Cellulose oder des Tunicins. Zeitschr. f. phys. Chem. 18, 43, 1893.

[2]) Pflügers Archiv 129, 1909.

Bei genauer Befolgung der Pflügerschen Vorschriften waren die ersten Resultate jedoch nicht den tatsächlichen Verhältnissen entsprechend. Da diese Fehler der Methode für die quantitative Glykogenbestimmung im allgemeinen, besonders aber für derartige Untersuchungen bei niederen Tieren von prinzipieller Bedeutung sind, soll später auf dieselben genauer eingegangen werden.

Als schließliches Resultat dieser Versuche ergab sich, daß bei den Ascidien reichliche Glykogenmengen vorhanden sind.

So fanden sich in 5 g Trockensubstanz der Organe 1,2972 g Glykogen, das sind nahezu 26%. In Wirklichkeit ist die vorhandene Glykogenmenge aber gewiß um vieles größer, da beim Trocknen der Organe bereits ein großer Teil des Glykogens zu Zucker hydrolysiert wird; denn als weiteres Resultat ergaben die Untersuchungen das Vorhandensein eines äußerst leistungsfähigen diastatischen Ferments. Prüft man ein aus den frischen Organen einer Phalusia gebildetes Organplasma auf seine Reduktionskraft, so ist diese negativ. Bereits nach kurzem Stehen bei Zimmertemperatur zeigt das Plasma (auch nach reichlichem Toluolzusatz) deutliche Reduktionsfähigkeit, die nach einigen Stunden bedeutend zunimmt. Untersuchungen der reduzierenden Substanz erwiesen das Vorhandensein von Traubenzucker. Die Bildung desselben wird durch Aufkochen des Plasmas verhindert.

Hinsichtlich der Temperaturgrenzen für die Leistungsfähigkeit dieses Ferments ergaben grobe Versuche, daß dasselbe bereits bei ca. 10° Zucker bildet, daß es durch zunehmende Temperaturen in seiner Leistungsfähigkeit gesteigert wird, daß aber das Optimum viel tiefer zu liegen scheint als das der diastatischen Fermente anderer Tiere (Warmblüter). Hierüber Genaueres zu erfahren, soll Aufgabe weiterer Untersuchungen sein.

Der große Kohlenhydratreichtum der Ascidien, der wohl $^1/_3$ des gesamten Trockenrückstandes ausmachen dürfte, läßt vermuten, daß der Kohlenhydratstoffwechsel dieser Tiere im Vordergrund steht, zumal der Eiweißbestand derselben ein ganz geringer ist.

Kruckenberg[1]) gelang es nicht, durch Extraktion mit Glycerin, Wasser, Säuren und Alkalien Fermente zu gewinnen,

[1]) Kruckenberg, Vergleichende physiolog. Studien, und: Über Enzymbildung bei Evertebraten.

mit denen die Verdauung rohen Fibrins zu erzielen gewesen wäre. Bloß mit Darminhalt von Ciona konnte er eine äußerst schwache tryptische Wirkung auf rohes Fibrin erzielen. Er glaubte daher, daß die Eiweißverdauung vorzugsweise durch Enzyme erfolge, die die Beute mit sich führt.

Die Beantwortung der oben gestellten Fragen setzt langdauernde und eingehende Stoffwechselversuche voraus, wie sie sich nur in einem marinen Institute mit entsprechend geschaffenen Einrichtungen durchführen lassen.

Ich beschränke mich deshalb darauf, meine Erfahrungen über das Glykogen mitzuteilen, die ja als Vorbedingung für die obigen Fragen von Wichtigkeit sind.

Wie bereits erwähnt, wurde die quantitative Glykogenbestimmung bei den Ascidien durch gewisse Umstände erschwert, die wegen ihrer allgemeinen Bedeutung hier ausführlicher mitgeteilt seien:

Während zum qualitativen Nachweis von Glykogen im allgemeinen das bloße Extrahieren der Organe mit kochendem Wasser genügen dürfte, erwies sich diese Methodik zur quantitativen Bestimmung dieser Substanz als vollkommen unzureichend, da ein großer Teil durch das Eiweiß zurückgehalten wird. Auch die Extraktion mit Trichloressigsäure erwies sich als ungenügend. Aus diesen Beobachtungen ergab sich die Notwendigkeit, die Organe durch Behandlung mit Lauge aufzuschließen. Dies benützte vor allem Brücke, der nach dem Lösen in Kalilauge die Eiweißkörper mit Hilfe des Brückeschen Reagens (Kalium-Quecksilber-Jodkalium) zur Fällung brachte. Külz stellte jedoch fest, daß auch jetzt der entstandene Niederschlag durch Auswaschen nicht von allem Glykogen zu befreien ist. Unter Beibehaltung des Prinzips der Kalilösung der Organe erfuhr die Methode im Laufe der Jahre vielfache Veränderungen und nahm schließlich als Pflügersche Methode festere Form an. Auch diese wurde von Pflüger selbst bis in die letzte Zeit häufig modifiziert. Das Prinzip dieser Methode, die heute fast allgemein zur quantitativen Bestimmung des Glykogens verwendet wird, ist kurz folgendes: Die Organe werden in 60%iger Kalilauge 2 Stunden gekocht. Der geringe, nicht

in Lösung gehende Rückstand kann abfiltriert oder vorläufig gemeinsam mit dem Glykogen durch Alkohol zur Fällung gebracht werden. Der Niederschlag wird hierauf aufs Filter gebracht, mit Alkohol und Äther gewaschen und gelöst. Der Teil des Niederschlags, der sich jetzt nicht löst, wird durch Glaswolle abfiltriert, und im Filtrat wird das Glykogen nach Ausfällung des Eiweißes durch Salzsäure entweder direkt polarimetrisch oder nach der Hydrolyse mit Salzsäure als Zucker bestimmt

Während nun in den meisten Fällen die zur Untersuchung gelangenden Organe sich in der starken Kalilauge bis auf einen geringen Rest lösen, beobachtete ich bei Benutzung dieser Methode zur quantitativen Glykogenbestimmmung bei den Tunicaten, daß ein bedeutender Teil derselben durch die Lauge nicht zur Lösung zu bringen war. Dieser Rückstand erwies sich sowohl in kaltem als in heißem Wasser als unlöslich, ließ sich vollkommen alkalifrei waschen und ging auf Zusatz von Salzsäure in Lösung. Diese Lösung war stets braungelb gefärbt und gab auf Zusatz von Jod eine weinrote Färbung, reduzierte nicht, wohl aber nach der Hydrolyse. Durch Alkohol war es möglich, aus dieser Lösung Glykogen als weißen Niederschlag auszufällen. Versetzte man eine solche Lösung mit Alkali, so entstand wiederum ein braungefärbter Niederschlag. Das Filtrat war vollkommen glykogenfrei. Da dieser Niederschlag in Wasser und Alkalien sowohl in der Kälte als auch in der Wärme fast unlöslich, wohl aber in Säuren löslich und durch dieselben in Zucker überführbar war, so dachte ich bereits daran, ein in Alkalien unlösliches Polysaccharid gefunden zu haben, das den Übergang von Glykogen zur Cellulose darstellen könnte.

Eine qualitative Analyse des Niederschlags ergab nun, daß derselbe neben Kalk auch reichlich Eisen enthielt. Dadurch ward die beobachtete Erscheinung aufgeklärt: Eisen und Calcium werden durch das Alkali als Hydroxyde gefällt und reißen das Glykogen mit sich. Es ist naheliegend, hier an eine Adsorption des Glykogens zu denken, obwohl auch Calcium- und Eisenverbindungen des Glykogens

$$[(C_6H_{10}O_5)_5Ca(OH)_2 \text{ und } (C_6H_{10}O_5)Fe_2O_3]$$

von Nasse[1]) und von Landwehr[2]) beschrieben wurden.

[1]) Nasse, Pflügers Archiv 37.

[2]) Landwehr, Zeitschr. f. phys. Chem. 8, 165.

Die adsorbierende Kraft des Eisenhydroxyds für Eiweiß ist bekannt und wird mit gutem Erfolge bei der Blutzuckerbestimmung nach Michaelis und Rona benutzt. Seine adsorbierende Fähigkeit gegenüber dem Glykogen geht aus folgendem Versuche hervor:

Zu je 10 ccm einer 1%igen Glykogenlösung (= 0,1 g Glykogen) werden von einer kolloiden Eisenhydroxydlösung, deren Gehalt als 0,0262 g Fe = 0,0337 g FeO im Kubikzentimeter bestimmt wurde, von 1 ccm aufsteigende Mengen hinzugesetzt, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat auf Glykogen geprüft.

Es ergab sich, daß 3 ccm = 0,0786 g Fe genügten, um 0,1 g Glykogen an sich zu reißen.

In einem Versuche, wo je 10 ccm einer 0,1%igen Glykogenlösung verwendet wurden, genügten 0,35 ccm der Eisenhydroxydlösung = 0,0092 g Fe zur vollständigen Adsorption von 0,01 g Glykogen.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß relativ geringe Eisenmengen bereits in Betracht kommende Glykogenmengen adsorbieren können. Bei der Pflügerschen Glykogenbestimmung wird nun der in Kalilauge unlösliche Teil, der das vorhandene Eisenhydroxyd mit dem adsorbierten Glykogen enthält, durch Abfiltrieren der Glykogenbestimmung entzogen. Es ist klar, daß dies einen prinzipiellen Fehler für die Methodik bedeutet, der naturgemäß von der Menge des vorhandenen Eisenhydroxyds abhängig sein wird.

Bei einer Glykogenbestimmung von Organen der Phalusia mamillata wurden nach Pflüger 0,8832 g Glykogen gefunden. Der in Kalilauge unlösliche Rückstand alkalifrei gewaschen, ergab einen weiteren Glykogengehalt von 0,4140 g = 47% der nach Pflüger bestimmten Menge. Derartige Fehler erscheinen auf Grund der Aschenanalysen von Ascidien erklärlich. So enthalten nach einer Analyse Kruckenbergs 100 Teile des Trockenrückstands der Ascidie 49,037 g organische und 50,963 g anorganische Substanz. Im Mantel allein fand Schütze unter den anorganischen Bestandteilen, neben Kieselsäure, Phosphorsäure, Tonerde, Calciumphosphat, Calciumcarbonat (49,22%) und Magnesiumcarbonat, 15,81% Eisenoxyd.

Da nun überall mit der Gegenwart von Eisen zu rechnen ist, wird auch bei allen Glykogenbestimmungen nach Pflüger

dieser Fehler in Betracht kommen müssen. Er wird geringer bei Warmblütern sein (bei einer Kaninchenleber betrug er bei Gegenwart von 2,35 g Glykogen ca. 3%), größer bei niederen Tieren mit hohem Eisengehalt, speziell bei Seetieren.

Der Glykogengehalt einer Karpfenleber nach Pflüger bestimmt ergab 0,4828 g. Der durch das vorhandene Eisen bedingte Fehler betrug 10,7%. Streng zu beachten ist auch bei der genannten Methode, daß kein eisenhaltiges Gefäß oder Instrument dabei verwendet werde; eine diesbezügliche Untersuchung hatte folgendes Resultat. In einer Karpfenleber, die in der 60%igen Lauge in einem schadhaft emaillierten Eisengefäße gelöst wurde, fand ich 0,26 g Glykogen. Die durch das teils vorhandene, teils neugebildete Eisenhydroxyd der Bestimmung nach Pflüger entzogene Glykogenmenge betrug 0,14 g = 54%.

Auf derartige Fehler wäre wohl bei Beurteilung einer Reihe von Glykogenarbeiten zu achten. Erwähnt sei unter anderem eine Mitteilung von Bottazzi[1]), der in den Selachierlebern reichlich Eisen, aber nur nach ausgiebiger Ernährung etwas Glykogen fand. Das Glykogen war nach Pflüger bestimmt worden. Aus dieser Mitteilung ist aber des weiteren ersichtlich, daß Eisen auch an Glykogen gebunden in Lösung gehen kann; denn in den Versuchen Bottazzis ging die Eisenreaktion nach der Hydrolyse des Glykogens bedeutend in die Höhe.

Einen weiteren „Beitrag zur Physiologie des Glykogens" gibt Wera Adamow[2]). Das Resultat der Untersuchung war, daß frisch ausgeschlüpfte Hühnchen kein Glykogen enthielten, wohl aber 7 Tage alte. Es wäre nicht unmöglich, daß auch hier der hohe Eisengehalt des neugeborenen Tieres mit schuld ist am negativen Ausfall der Glykogenuntersuchung.

Erwähnt sei ferner, daß Pflüger selbst in seiner letzten Mitteilung[3]) hervorhebt, daß seine Glykogenbestimmungsmethode für Schildkrötenlebern nicht in gleicher Weise verwendbar sei, wie in den anderen Fällen. Es scheint auch hier das Eisenhydroxyd die Ursache des methodischen Fehlers zu sein.

---

[1]) Bottazzi, Grassi e Glucogeno nel fegato dei Selacii. Atti della R. Accad. de Lincei 16, 2° Sem. 514, 1907.

[2]) Zeitschr. f. Biol. 46, 281.

[3]) Pflügers Arch. 134, 1910.

Vom pathologischen Gesichtspunkte aus wäre noch an eine Beziehung von Glykogen zum Eisen beim Bronzediabetes zu denken. Herr Prof. Kretz[1]) beobachtete bei einem derartigen Fall, daß es nicht möglich war, in der Leber auf mikrochemischem Wege Glykogen nachzuweisen, was bei anderen normalen Lebern und solchen von Diabetikern mit Leichtigkeit gelingt. Da die Leber des erwähnten Falles von Bronzediabetes äußerst eisenreich war (1% des Gewichtes des frischen Organs), so besteht auch hier die Möglichkeit, daß das Eisen durch obige Beziehung zum Glykogen den Nachweis desselben erschwert. Fassen wir nun vorstehende Untersuchungen zusammen, so ergibt sich, daß die Tunicaten (Ascidien) neben ihrer Cellulose als zweites Polysaccharid reichliche Mengen Glykogen besitzen und imstande sind, dieses durch ein äußerst leistungsfähiges diastatisches Ferment schon bei relativ niedriger Temperatur in Zucker zu verwandeln.

Da bei der Pflügerschen Methode der quantitativen Glykogenbestimmuug durch Benützung von Kalilauge das immer vorhandene Eisen als Eisenhydroxyd gefällt wird und dieses bedeutende Glykogenmengen adsorbieren kann, so sind Bestimmungen unter Vernachlässigung dieses Moments fehlerhaft. Es ist daher bei allen Glykogenbestimmungen auch der in Kalilauge unlösliche Teil in Salzsäure zu lösen und in ihm das etwa vorhandene Glykogen zu bestimmen, da andernfalls Fehler unterlaufen, die — wie z. B. bei den Ascidien — bis zu 50% betragen können.

Die oben mitgeteilten Versuche wurden zum Teil im chemischen Laboratorium der zoologischen Station in Triest ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Direktor Prof. Dr. Cori an dieser Stelle für seine liebenswürdige Unterstützung sowie für die reichliche Beschaffung des Materials meinen ergebensten Dank auszusprechen.

[1]) Auf Grund einer persönlichen Mitteilung.

Experimentelle Untersuchungen über einige Fehlerquellen bei der Darstellung eines antipankreatischen Serums.

Von

Karl Rinderspacher.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 18. Mai 1910.)

Die grundlegenden Arbeiten von v. Mering und Minkowski, sowie dessen Schüler haben unzweifelhaft gezeigt, daß dem Pankreas im Ablauf des regelmäßigen Kohlenhydratstoffwechsels eine entscheidende Rolle zukommt. Diese scheint besonders an die Funktionsfähigkeit der Langerhansschen Inseln gebunden zu sein; wenigstens zeigen neuere Arbeiten, z. B. die von Ssobolew[1]), daß die Drüsenazini des Pankreas wohl atrophieren können, ohne daß Glukosurie eintritt, vorausgesetzt, daß in den atrophierten Drüsenmassen Langerhanssche Zellkomplexe funktionstüchtig geblieben sind.

Bisher hatte man es versucht, auf blutigem Wege das Pankreas auszuschalten und aus den Ausfallserscheinungen seine Funktion zu erschließen. Doch hat es auch nicht an Versuchen gefehlt, das gleiche Ziel unblutig, auf mehr physiologische Art und Weise zu erreichen. Nachdem früher schon Surmont[2]) mit geringem Erfolge Experimente nach dieser Richtung hin angestellt hatte, schien es J. De Meyer[3]) in neuester Zeit gelungen zu sein, das Pankreas durch Injektion eines spezifischen cytotoxischen Serums an seiner Mitwirkung im Stoffwechsel des Organismus zu hindern.

Auf Grund eingehender Untersuchungen über die von Lépine entdeckte Glykolyse kommt er zu der Ansicht, daß diese ein wesentlicher

[1]) Ssobolew, Virchows Archiv 168, 91, 1902.

[2]) Surmont, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 53, 445, 1901.

[3]) J. De Meyer, Arch. int. de physiol. 7, 317, 1909.

Faktor des Kohlenhydratstoffwechsels sei, der durch die Einwirkung eines Ferments in Szene gesetzt werde. Das Pankreas hat dabei eine wichtige Aufgabe zu erfüllen: Von den Leukocyten wird ein Proferment abgesondert, das durch die Einwirkung der inneren Sekretion des Pankreas aktiviert wird und so durch diese „substance sensibilisatrice" in das glykolytische Ferment verwandelt wird.[1])

Durch eine große Reihe von weiteren Versuchen sucht De Meyer diese Ansicht zu stützen. Er geht dabei so vor, daß er sowohl die Wirkung des Profermentes, wie der „substance sensibilisatrice" des Pankreas durch spezifisch wirkende Sera aufhebt oder abschwächt. Das Serum wird in der gewöhnlichen Art dargestellt, indem zu wiederholten Malen das Blut des Hundes bzw. das Extrakt des Hundepankreas als Antigen Kaninchen injiziert werden. Durch die Injektion des so gewonnenen Kaninchenserums in das Blutgefäßsystem des Hundes kommt es dann zu einer Steigerung des Blutzuckergehaltes. Nach Injektion des antipankreatischen Serums konnte sogar das Auftreten von Traubenzucker im Urin der Versuchstiere beobachtet werden. Bei der Darstellung der Sera war es unvermeidlich, daß auch rote Blutkörperchen des Hundes den Kaninchen mit injiziert wurden. Es mußten daher in dem Serum sowohl Hämolysine, wie Agglutinine für die roten Blutkörperchen des Hundes entstanden sein. Um deren etwaigen störenden Einfluß auszuschalten, brachte De Meyer die Sera zum Teil wenigstens mit Hundeerythrocyten in Kontakt, bevor sie den Versuchstieren injiziert wurden. Jetzt waren die Werte für den Blutzucker geringer als in den Versuchen, in denen das antipankreatische Serum von Hämolysinen und Agglutininen nicht befreit worden war. De Meyer erklärt diese Erscheinungen damit, daß bei der Entziehung der Hämolysine und Agglutinine auch ein nicht unbeträchtlicher Teil der pankreatoxischen Substanzen auf den agglutinierten Erythrocyten fixiert werde und dadurch dem Serum verloren gehe.

Gleichgültig, wie hoch man die Wichtigkeit und den Wert der Glykolyse für den Stoffwechsel der Kohlenhydrate einschätzt, bot die Arbeit De Meyers doch außerordentlich viel des Interessanten dar. Es schien nunmehr möglich zu sein, nach der Methode dieses Autors mit Hilfe eines Serums die innere Sekretion des Pankreas auszuschalten und dadurch einen Pankreasdiabetes zu erzeugen.

Deshalb unternahm ich es auf Anraten von Herrn Privatdozent Dr. M. Kochmann und unter seiner Leitung, nach der De Meyerschen Methode, soweit sie aus einer vorläufigen Mit-

---

[1]) J. De Meyer, Ann. de la soc. des sc. méd. et nat. de Bruxelles 15, 155, 1906. — J. De Meyer, Annales de l'Inst. Pasteur, Paris 1908, Oktober, 22.

teilung[1]) ersichtlich war, ein solch antipankreatisches Serum darzustellen. Es sollte dann nachgeprüft werden, ob durch die Injektion eines solchen Serums bei den Versuchstieren Glukosurie erzeugt werden könne und ob in den Langerhansschen Inseln makro- und mikroskopische Veränderungen sich würden nachweisen lassen.

Ich ging damals so vor, daß ich genau nach den Vorschriften De Meyers einen Organextrakt aus dem Pankreas eines Hundes darstellte und diesen auf zwei Kaninchen verteilte, denen er intraperitoneal injiziert wurde. Diese Injektionen wurden 9mal vorgenommen.

Versuch 1.

7. X. 08. 40 ccm Extrakt vom Pankreas eines 6 kg schweren Hundes. Je 20 ccm werden Kaninchen Nr. 1 (2145 g) und Kaninchen Nr. 2 (2100 g) intraperitoneal injiziert. Urin der Kaninchen eiweißfrei und frei von Zucker.

14. X. 08. Je 20 ccm Pankreasextrakt werden den beiden Kaninchen injiziert. Urin frei von Eiweiß und Zucker. Gewicht des Hundes 4 kg.

21. X. 08. Hund von 5 kg. Je 25 ccm Pankreasextrakt werden den Kaninchen verabreicht, von denen Nr. 1 2015 g, Nr. 2 2230 g wiegen.

29. X. 08. Hund von 8 kg. Je 20 ccm Pankreasextrakt injiziert.

13. XI. 08. Je 20 ccm Pankreasextrakt werden den Kaninchen injiziert, deren Urin frei von Eiweiß und Zucker bleibt.

16. XI. 08. Hund von 16 kg. Aus dem Pankreas werden 40 ccm Extrakt hergestellt und den beiden Kaninchen injiziert.

20. XI. 08. Hund 7 kg schwer. Kaninchen Nr. 1 (1930 g) und Nr. 2 (2420 g) erhalten je 20 ccm Pankreasextrakt. Urin frei von Eiweiß und Zucker.

27. XI. 08. Hund 6 kg schwer. Kaninchen Nr. 1 (2290 g) und Nr. 2 (2595 g) erhalten je 20 ccm Pankreasextrakt. Urin bleibt normal.

4. XII. 08. Hund von 4 kg. Gewicht der Kaninchen Nr. 1 2410 g, Nr. 2 2910 g. Nr. 1 erhält 25 ccm und Nr. 2 20 ccm Pankreasextrakt.

Als Nahrung erhielten die Kaninchen ungefähr 50 g Hafer und 150 g Runkelrüben täglich.

12. XII. 08. In tiefer Äthernarkose wird den beiden Kaninchen unter aseptischen Kautelen der Brustkorb eröffnet, die Lungen rasch entfernt und das pulsierende Herz angeschnitten. Das sich in den Thorax ergießende Blut wird in sterile Zentrifugengläser geschöpft, wo es gerinnt und sofort zentrifugiert wird. Das so erhaltene Serum wird in

---

[1]) J. De Meyer, Bull. de la soc. des sc. méd. et nat. de Bruxelles 66, 73, 1908.

sterile kleine Kölbchen aus braunem Glase gebracht, die zugeschmolzen und an einem kühlen Orte aufbewahrt werden. In jedem Gläschen sind 5 bis 8 ccm Serum enthalten, die jedesmal nach der Vorschrift De Meyers $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt werden, bevor sie den Versuchstieren injiziert wurden. Die mit diesem Serum erhaltenen Ergebnisse der Injektionen bei Hunden waren folgende: (s. Tabelle I und II).

Tabelle I.

Hund Nr. 1, männlich.

Datum	Ser. injiziert	Albumen	Zucker	Gewicht g	Urin ccm
19. XII. 08		Spur	negativ	5400	
20. „ „	10 ccm; intraperitoneal	„	„		
21. „ „		„	„		135
22. „ „		„	„		127
23. „ „	4 ccm; desgl.	„	„		45
24. „ „		negativ	„		50
25. „ „		„	„		60
26. „ „		Spur	„		90
27. „ „	5 ccm; desgl.	„	„	5170	48
28. „ „		„	„		54
29. „ „		„	„		68
30. „ „		„	positiv		97
31. „ „	4 ccm; desgl.	„	negativ	5300	82
1. I. 09 „		„	positiv		145
2. „ „		negativ	negativ		75
3. „ „		Spur	„		80
4. „ „		„	„		135
5. „ „		„	„		30
6. „ „	9 ccm; desgl.	„	„		210
7. „ „		„	„		0
8. „ „		„	„		22
9. „ „		„	„		40
10. „ „		„	„		24
11. „ „		„	„	5000	39
12. „ „		„	„		35
13. „ „		„	„		?
14. „ „	5 ccm; intravenös	„	„	5500	147
15. „ „		„	„		125
16. „ „		„	„		97
17. „ „		„	„		15
18. „ „		„	„		15

Da nun in diesen Versuchen von einer regelmäßigen, von der Serumeinspritzung abhängigen Zuckerausscheidung nicht die Rede sein kann, andererseits die Herstellung des Serums genau nach Vorschrift geschehen war, so konnte der einzige Grund, wie ich jetzt sehe, nur der sein, daß nicht die gleichen Mengen Serums injiziert wurden wie in den Versuchen De Meyers.

Da mir damals aber diese Angaben noch nicht vorlagen, legte mir der Mißerfolg die Vermutung nahe, es könnten vielleicht bei den Versuchen De Meyers gewisse Nebenumstände eine so große Rolle gespielt haben, daß womöglich sie die Ursache seiner Ergebnisse waren.

Tabelle II.

Hund Nr. 2, männlich.

Datum	Ser. injiziert	Albumen	Zucker	Gewicht g	Urin ccm
19. XII. 08		Spur	negativ	1530	
20. „ „	10 ccm; intraperitoneal	„	positiv		40
21. „ „		„	„		35
22. „ „		„	negativ		
23. „ „	4 ccm; desgl.	„	„		30
24. „ „		„	„		27
25. „ „		„	„	1550	30
26. „ „		„	„		118
27. „ „		„	„		64
28. „ „		„	„		50
29. „ „		„	„		37
30. „ „		„	„	1560	35
31. „ „	4 ccm; desgl.	„	„		78
1. I. 09		negativ	„		48
2. „ „		„	„		142
3. „ „		„	positiv		50
4. „ „		„	negativ		47
5. „ „		Spur	„		53
6. „ „	5 ccm; intravenös	„	„		49
7. „ „		„	„		23
8. „ „		„	„		93
9. „ „		„	„		?
10. „ „		„	„		?
11. „ „		„	„	1300	22
12. „ „	5 ccm; desgl.	„	„		13
13. „ „		„	„		25
14. „ „		„	„	1280	15
15. „ „		„	„		102

In erster Linie war an den Einfluß der bei jeder Blutzuckerbestimmung auszuführenden Blutentziehung zu denken. Ganz besonders glaubte ich auf sie Rücksicht nehmen zu müssen, als ich in der inzwischen erschienenen ausführlichen Arbeit über das antipankreatische Serum die Mengen des hierzu entzogenen Blutes eine beträchtliche Größe annehmen sah. Um sich von diesem Gesichtspunkte der Blutentziehung aus einen Überblick über die Versuche De Meyers zu verschaffen, gebe ich seine Ergebnisse in Tabelle III wieder.

Tabelle III.

Nr.	Gewicht des Hundes g	1. Aderlaß Blut g	1. Aderlaß Zucker ‰	Zeit Min.	2. Aderlaß Blut g	2. Aderlaß Zucker ‰	Zeit Min.	3. Aderlaß Blut g	3. Aderlaß Zucker ‰
A. 5	4110	19,6	0,565	15	15,70	1,76	30	18,45	0,71
6	4900	23,05	0,68	40	22,25	1,45			
7	5000	48,4	1,231	40	24,28	2,865	60	23,53	3,01
8	6500	23,1	0,808	30	26,05	1,72	30	23,4	1,564
9	4520	13,85	0,645	30	13,75	0,650			
10	4960	23,25	0,907	30	22,9	2,672			
B. 14	6000	29,1	0,801	30	28,0	0,858	45	26,32	1,025
15	5000	28,85	0,858	30	28,85	1,465	45	28,9	1,17
16	5000	16,95	0,359	30	17,5	0,427	90	17,5	1,017
17	4220	10,1	0,822	15	14,75	0,750			
19	6600	25,8	1,65	30	25,35	1,015			
21	5600	29,37	1,702	30	30,82	1,725			
22	15000	28,15	0,89	30	32,7	0,902	60	26,83	1,208

Hierbei sind unter A die Versuche zusammengefaßt, bei denen zwischen den Blutentziehungen Injektionen von hämolytischem Serum gemacht worden waren, und unter B die Versuche mit nicht mehr hämolytischem, „antipankreatischem" Serum zusammengestellt.

Setzt man den Anfangswert des Blutzuckers gleich 100, so ist es leicht, die Veränderungen in Zahlen auszudrücken, die einen Vergleich der einzelnen Versuche untereinander und mit den Ergebnissen anderer Autoren ermöglichen.

Tabelle IV.

Nummer des Versuchs	1. Aderlaß	2. Aderlaß	3. Aderlaß	Im Mittel
A. 5	100	314	126	
6	100	213		
7	100	232	244	
8	100	213	193	100 : 214
9	100	101		
10	100	294		
B. 14	100	107	128	
15	100	171	137	
16	100	119	283	
17	100	91		100 : 130
19	100	61		
21	100	101		
22	100	101	136	

Wir sehen also, daß bei den Versuchen, die unter A zusammengefaßt sind, Steigerungen von 100 bis auf 314, im Mittel auf 214 vorkommen, während die Erhöhung des Blutzuckergehaltes bei den mit B bezeichneten Versuchen, in denen

Tabelle V.

Nr.	Tierart	Gewicht g	1. Aderlaß Blut g	1. Aderlaß Zucker ‰	Zeit	2. Aderlaß Blut g	2. Aderlaß Zucker ‰	Zeit	3. Aderlaß Blut g	3. Aderlaß Zucker ‰	Autor
1	Kaninchen		21,6	0,31	15′	32,5	0,68				Große-Leege[1])
2	„		20,5	0,19	15′	23,1	0,08				
3	„		20,0	0,015	10′	25,0	1,12				
4	Hund	7500	42,8	0,46	10′	42,2	1,26				
5	Kaninchen	—	21,8	0,68	12′	27,5	1,42				Schenk[2])
6	„		27,0	0,82	12′	26,0	1,61				
7	„		24,7	0,83	12′	30,1	1,50				
8	„		29,7	1,16	12′	28,7	1,62				
9	„		22,4	1,39	12′	23,5	2,17				
10	„		22,2	1,60	12′	25,1	2,18				
11	„		21,0	1,60	120′	25,7	1,56				
12	„		25,8	1,30	120′	27,8	1,61				
13	„		27,0	1,16	120′	27,4	1,37				
14	„		30,9	0,88	60′	30,0	1,06				Rose[3])
15	„		37,0	0,92	90′	35,2	1,50				
16	„		32,8	1,01	105′	45,3	1,39				
17	„		25,0	0,80	150′	31,5	1,12				
18	„		41,8	1,09	180′	35,6	1,26				
19	„		28,3	0,98	240′	41,1	0,99				
20	„	1600	20,0	1,14	75′	25,0	2,60				Lewandowsky[4])
21	„	1900	27,0	0,79	75′	21,0	3,15				
22	„	2200	20,0	0,93	75′	20,0	2,22	75′	20,0	2,42	
23	„	1600	20,0	0,45	75′	20,0	0,72	75′	20,0	1,13	
24	Hund			2,10		500,0	3,05				v. Mering[5])
25	„			1,50		400,0	2,15				
26	„			1,40		400,0	2,45				
27	„			1,20		560,0	2,50		660,0	2,60	
28	„			2,90		300,0	1,90				
29	Kaninchen	2000	23,0	1,4	5′	16,7	2,3				Anderson[6])
30	„	2100	23,9	1,2	6′	20,4	1,8				
31	„	2800	18,4	1,2	7′	36,4	2,0				
32	„	1800	31,6	1,2	8′	19,4	2,4				
33	„	1200	23,1	1,2	10′	26,9	1,6				
34	„	1900	34,2	1,3	12′	19,8	1,7				
35	„	2000	29,8	1,2	15′	22,4	2,3				
36	„	1600	34,4	1,2	22′	20,5	3,2				
37	„	2200	40,4	1,2	30′	21,4	3,7				

[1]) Große-Leege, Über den Einfluß der Blutentziehung auf den Zuckergeh. des Blutes. Dissertation. Würzburg 1893.

[2]) Schenk, Fr., Über den Zuckergeh. im Blut nach Blutentziehung. Pflügers Archiv 57, 553, 1894.

[3]) Rose, U., Der Blutz.-Geh. des Kaninchens usw. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 15, 1903.

[4]) Lewandowsky, F., Zur Kenntnis des Phloridzin-Diabetes. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. 365, 1901.

[5]) v. Mering, Arch. f. Anat. u. Phys. 379, 1877.

[6]) Anderson, Nils, diese Zeitschr. 12, 1, 1908.

hämolysinfreies Serum verwandt wurde, zwar in einem Fall auch das 2,83fache des ursprünglichen Wertes erreichte, im Mittel aber nur das 1,3fache betrug.

Vergleichen wir nun damit die Angaben der Literatur über die Steigerung des Blutzuckergehaltes nach einfachen Blutentziehungen, so ergibt sich, daß, wie Tabelle V zeigt, ebenfalls erhebliche Werte erzielt werden.

Berechnen wir auch für diese Tabelle die Werte der relativen Steigerungen der Blutzuckerwerte, so ergibt sich folgendes.

Tabelle VI.

Nr.	1. Aderlaß	2. Aderlaß	3. Aderlaß	Autor
1	100	219		Große-Leege
2	100	42		
3	100	746		
4	100	274		
5	100	209		Schenk
6	100	196		
7	100	181		
8	100	139		
9	100	156		
10	100	136		
11	100	97		
12	100	124		
13	100	118		
14	100	120		Rose
15	100	163		
16	100	137		
17	100	140		
18	100	115		
19	100	101		
20	100	228		Lewandowsky
21	100	399		
22	100	238	260	
23	100	160	251	
24	100	145		v. Mering
25	100	143		
26	100	175		
27	100	208	217	
28	100	65		
29	100	164		Anderson
30	100	150		
31	100	166		
32	100	200		
33	100	133		
34	100	120		
35	100	191		
36	100	266		
37	100	308		

Wir finden also als Ergebnis dieser Angaben das allgemein gültige Gesetz, daß eine Blutentziehung fast regelmäßig einen Anstieg des Blutzuckergehaltes zur Folge hat, im Mittel 100:190.

Da die Autoren aber mit wenigen Ausnahmen ihre Versuche an Kaninchen angestellt haben und auch andere Blutmengen entzogen haben als De Meyer, so ergab sich für mich die Notwendigkeit, Versuche in dieser Richtung an Hunden anzustellen, und zwar qualitativ und quantitativ möglichst ähnlich denen, mit denen sie verglichen werden sollten.

Versuch 2.

Die hier ausgeführten Blutzuckerbestimmungen sind in den Versuchen 2, 3, 4 genau nach der von De Meyer[1]) beschriebenen Methode vorgenommen worden.

Hund, weiblich, 5250 g. Am 1. II. 09 12^h werden unter vollkommen aseptischen Maßnahmen 11,693 g Blut aus der Carotis entnommen $12^h 15'$. Erneute Blutentnahme von 10,048 g.

Die 1. Probe liefert 0,0326 g CuO, die 2. 0,0333 g CuO. Dies entspricht 12 mg und 12,295 mg Zucker, oder in 1000 g Blut, 1,0263 g bzw. 1,2236 g Zucker. Urin frei von Eiweiß und Zucker.

Versuch 3.

Männlicher Hund von 4150 g Gewicht.

14. II. 09. $12^h 40'$ Blutentnahme aus der rechten A. femoralis von 14,319 g.

1^h. 2. Blutentziehung von 14,569 g.

Die 1. Probe liefert 0,0275 g CuO, die 2. 0,0329 g. Diese Werte entsprechen 9,84 bzw. 12,126 mg Zucker. Auf 1000 g Blut berechnet enthält die 1. Probe 0,6872 g, die 2. 0,8323 g Zucker. Urin des Hundes enthält nur eine Spur Eiweiß.

Versuch 4.

Männlicher Hund von 5100 g Gewicht.

1. III. 09. 10^h. Blutentnahme aus der rechten A. femoralis von 67,35 g Blut. Zur Analyse verwandt 24,7 g, analysiert 12,45 g.

$10^h 40'$. 2. Blutentziehung von 26,16 g.

Probe I liefert 0,0644 g, Probe II liefert 0,0406 g CuO. Dies entspricht 23,63 mg bzw. 13,59 mg Zucker. In 1000 g Blut sind nach der 1. Probe 0,9567 g, in der 2. Probe 1,0916 g Zucker vorhanden.

Urin des Hundes frei von Eiweiß und Zucker.

Versuch 5.

In den folgenden Versuchen wurde zur Bestimmung des Zuckergehaltes des Blutes eine einfachere Methode angewandt, die Oppler und Rona[2]) beschrieben haben. Nur in unwesentlichen Punkten sind

[1]) J. DeMeyer, Bull. de la soc. des sc. méd. et nat. de Bruxelles 1904.

[2]) B. Oppler und P. Rona, diese Zeitschr. 18, 122, 1908.

wir von den Angaben der Autoren abgewichen, wie sich aus der folgenden Beschreibung ergibt: In ein kleines Kölbchen, das ungefähr 100 ccm destilliertes Wasser enthält und abgewogen ist, wird die dem Versuchstier entzogene Blutmenge gebracht, und das Kölbchen von neuem gewogen. Aus der Differenz ergibt sich die entzogene Menge Blutes. Dann wird dieses Blut mit destilliertem Wasser in einen Meßkolben von 1 l Inhalt übergespült. Hierzu setzt man Ferrum oxydatum dialysatum in verdünntem Zustande langsam unter Umschwenken und fügt noch 5 g Natrium sulfuricum hinzu. Das Ganze wird auf 1 l aufgefüllt, filtriert, und 700 ccm des Filtrats auf dem Wasserbade unter vermindertem Druck eingedampft, wobei die Temperatur des Wasserbades 50 bis 60° und der negative Druck 20 bis 30 mm Hg betragen darf. Nach einer persönlichen Mitteilung von Herrn Dr. Rona beeinflußt weder die Veränderung des Druckes, noch die Fällung mit Natrium anstatt mit Magnesium sulfuricum, wie ursprünglich angegeben wurde, die Ergebnisse. Die Fällung mit Na_2SO_4 war nötig, um in dem eingedampften Filtrat den Traubenzucker nach Pflüger-Allihn bestimmen zu können. Kontrollanalysen des Zuckers in demselben Blut ergaben nur Differenzen von 0,0001 g CuO.

Männlicher Hund 6500 g.

10. IV. 09. 10^h 10′. Blutentnahme aus der linken A. carotis von von 23,435 g.

10^h 40′. 2. Blutentnahme von 28,150 g.

11^h 20′. 3. Blutentziehung von 15,905 g,

Da das 1. Filtrat noch nicht völlig eiweißfrei war, wird es ein zweites Mal gefällt und wiederum 700 ccm als aliquoter Teil zur Analyse verwandt.

Blutprobe I lieferte nunmehr 0,0273 g CuO, Probe II 0,0454 g, Probe III 0,0235 g.

Die entsprechenden Zuckerwerte sind:

I 9,755 mg
II 15,633 „
III 8,148 „

In den Blutproben war also enthalten:

I 19,90 mg Zucker
II 31,90 „ „
III 16,61 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet ergibt sich:

I 0,8491 g Zucker
II 1,1332 g „
III 1,0443 g „

Versuch 6.

Männlicher Hund von 6400 g.

15. VI. 09. 10^h 15′. 1. Blutentnahme von 20,290 g aus der linken A. femoralis.

11h. 2. Blutentziehung von 40 ccm Blut, von denen 20,185 g zur Untersuchung kamen.

12h. 3. Aderlaß von 20,060 g. Auch hier mußte die Eiweißfällung 2mal vorgenommen werden. In den 700 ccm des 2. Filtrats fanden sich:

I 0,0339 g CuO
II 0,0302 g „
III 0,0444 g „

Diesen Werten entsprechen:

I 12,626 mg Zucker
II 10,985 „ „
III 15,211 „ „

In den ursprünglichen Blutproben war also enthalten:

I 25,76 mg Zucker
II 22,42 „ „
III 31,04 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet ergibt sich:

I 1,2695 g Zucker
II 1,1107 g „
III 1,5473 g „

Urin des Versuchstieres dauernd frei von Eiweiß und Zucker.

Versuch 7.

Hund männlich, 6600 g.

28. VI. 09. 8h 55'. 1. Blutentziehung aus der A. femoralis von 40 ccm, davon werden 19,68 analysiert.

9h 25'. 2. Blutentnahme von 40 ccm, davon werden 20,12 g analysiert.

9h 55'. 3. Blutentziehung von 35 ccm, davon werden 14,621 g analysiert.

10h 40'. 4. Blutentziehung von 19,67 g Blut. Probe I bis III 1 mal gefällt, Probe IV 2mal. Die Analyse der aliquoten Teile ergab für

Probe I 0,0426 g CuO
„ II 0,0468 g „
„ III 0,0353 g „
„ IV 0,0506 g „

Diesen Werten entsprechen folgende Zuckermengen:

I 14,422 mg Zucker
II 16,211 „ „
III 13,153 „ „
IV 17,802 „ „

In der ursprünglichen Blutmenge war demnach enthalten:

I 20,603 mg Zucker
II 23,16 „ „
III 18,79 „ „
IV 36,33 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet ergibt sich daher für

Probe I 1,0468 g Zucker
„ II 1,1510 g „
„ III 1,2851 g „
„ IV 1,8469 g „

Urin des Hundes eiweiß- und zuckerfrei.

Tabellarisch geordnet lassen sich die Ergebnisse der Versuche 2 bis 7 zusammenfassen:

Tabelle VII.

Nr.	Datum	Gewicht des Hundes	1. Aderlaß		Zeit	2. Aderlaß		Zeit	3. Aderlaß	
			Blut g	Zucker ‰		Blut g	Zucker ‰		Blut g	Zucker ‰
2	1. II. 09	5250	11,69	1,0263	15′	10,05	1,2236			
3	14. II. 09	4150	14,319	0,6872	20′	14,569	0,8322			
4	1. III. 09	5100	67,35	0,9567	40′	26,16	1,0916			
5	10. IV. 09	6500	23,435	0,8491	30′	28,15	1,1332	40′	15,905	1,0443
6	15. VI. 09	6400	20,29	1,2695	45′	40,00	1,1106	60′	20,06	1,5473
7	28. VI. 09	6600	40,00	1,0468	30′	40,00	1,1510	30′	35,00	1,2851
								4. Aderlaß Nr. 7		
								45′	19,67	1,8469

Auf 100, als Anfangsgehalt des Blutes an Traubenzucker, gebracht, lautet die Tabelle:

Tabelle VIII.

Nr.	1. Aderlaß	2. Aderlaß	3. Aderlaß	4. Aderlaß	Im Mittel
2	100	119			
3	100	121			
4	100	114			
5	100	133	123		100:122,7
6	100	87	122		
7	100	109	123	176	

Diese Versuche bestätigen also das auch von früheren Untersuchern gewonnene Resultat, daß nämlich die Blutentziehung an und für sich den Zuckergehalt im Blute steigert. Dabei ist die Tatsache bemerkenswert, daß diese Steigerung keineswegs in einem bestimmten Abhängigkeitsverhältnis zu der Menge des entzogenen Blutes steht, wie übrigens schon Anderson[1]) hat nachweisen können.

Das Wichtigste und Interessanteste dieser Versuche ist für uns aber der Vergleich mit den Ergebnissen De Meyers, die wir oben schon wiedergegeben haben. Wir hatten ge-

[1]) l. c.

sehen, daß dieser Autor nach Entnahme des für die Analyse nötigen Blutes und Injektion des von Hämolysinen und Agglutininen befreiten „antipankreatischen" Serums eine Steigerung des Blutzuckergehaltes von 100 auf 130 im Mittel erhalten hatte. Die einfache Blutentziehung hatte aber in unsern Versuchen schon eine Erhöhung des Blutzuckers von 100 auf 123 im Mittel zur Folge.

Da unsere Versuche 2 bis 7 bezüglich der Blutentziehung sowohl qualitativ wie quantitativ direkt mit den De Meyerschen zu vergleichen sind, so muß die Erhöhung des Blutzuckergehaltes in den Tierversuchen dieses Autors weniger auf die Wirkung des „antipankreatischen" Serums als auf die Wirkung der Blutentnahme bezogen werden.

Anders verhält es sich mit den Versuchen De Meyers, die wir in der tabellarischen Zusammenstellung Nr. III und IV unter A zusammengefaßt haben. Ihre Ergebnisse sind durch die Wirkungen des Aderlasses nicht zu erklären, da die Erhöhung des Blutzuckergehaltes zu groß ist. Der Unterschied zwischen diesen und den unter A zusammengestellten Versuchen De Meyers ist aber der, daß im ersteren Falle ein Serum injiziert wurde, das hämolysierende und agglutinierende Eigenschaften besaß. Dies legte mir den Gedanken nahe, daß gerade dadurch die größeren Werte des Blutzuckers bedingt sein könnten und daß die Ansicht De Meyers, ein Teil der pankreatoxischen Substanzen fixiere sich auf den agglutinierten Erythrocyten, nicht zu Recht bestehe.

Es galt also die Frage zu beantworten, ob ein Serum, das hämolytische und agglutinierende Eigenschaften besitzt, imstande ist, den Gehalt des Blutes an Traubenzucker bei intravenöser Darreichung zu erhöhen. Zuvor aber war es nötig, sich darüber zu orientieren, wie ein normales artfremdes Serum in dieser Hinsicht wirke. Die folgenden Versuche geben darüber Aufschluß:

Versuch 8.

18. II. 09. Männlicher Hund von 4100 g Körpergewicht.

4^h. Blutentnahme von 14,842 g aus der A. femoralis. Injektion von 30 ccm Rinderserum, das $^1/_2$ Stunde auf 56° C erwärmt worden ist.

4^h 40′. 2. Blutentnahme von 11,999 g.

Die Analyse ergab für

Probe I 0,0405 g CuO
„ II 0,0444 „ „

Dies entspricht I 13,548 mg Traubenzucker
II 15,211 „ „
In den entnommenen Blutproben waren mithin pro 1000 g Blut
I 0,9129 g Traubenzucker
II 1,2677 „ „

Versuch 9.

8. VII. 09. Weiblicher Hund, 7800 g.

5h. Blutentnahme von 25,36 g, daran anschließend Injektion von 15 ccm vorher 1/2 Stunde lang auf 56° C erwärmten normalen Kaninchenserums.

5h 40'. 2. Blutentnahme von 24,725 g.

Die Analyse ergab für
Probe I 0,0452 g CuO
„ II 0,0424 „ „

Dies entspricht, da bei II eine 2malige Enteiweißung stattfinden mußte, für
I 15,548 mg Zucker
II 14,338 „ „
In den entnommenen Blutproben waren also vorhanden:
I 22,211 mg Zucker
II 29,261 „ „ (da hier eine 2malige Fällung des Eiweißes nötig war).
In 1000 g Blut sind also vorhanden:
I 0,8758 g Zucker
II 1,1834 g Blutzucker.

Versuch 10.

14. VII. 09. Hund, männlich, 7500 g.

11h 30'. 1. Blutentnahme von 15,19 g. Injektion von 50 ccm Kaninchenserum, 1/2 Stunde auf 56° erwärmt.

12h 30'. 2. Blutentnahme von 20,265 g.

Der aliquote Teil von 7/10 des Ganzen lieferte bei der Analyse für
Probe I 0,0247 g CuO
„ II 0,0415 „ „
Dies entspricht den Zuckerwerten von
I 8,648 mg Zucker
II 13,958 „ „
In den ursprünglichen Blutproben war also vorhanden:
I 12,354 mg Zucker
II 19,94 „ „
Auf 1000 g Blut berechnet:
I 0,8133 g Zucker
II 0,9839 „ „

Versuch 11.

22. VII. 09. Männlicher Hund von 11200 g.

10h 5'. 1. Blutentnahme aus der Art. carotis von 19,990 g. Sofort daran anschließend Injektion von 50 ccm Kaninchenserum, 1/2 Stunde lang auf 56° erwärmt.

$11^h 40'$. 2. Blutentziehung von 20,250 g.

Der aliquote Teil von $^7/_{10}$ des entnommenen Blutes lieferte bei der Analyse für

Probe I 0,0350 g CuO
„ II 0,0398 „ „

Dies entspricht

I 11,241 mg Zucker
II 13,253 „ „

In der ursprünglichen Blutprobe waren also enthalten:

I 16,06 mg Zucker
II 18,933 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet:

I 0,8034 g Zucker
II 0,9349 „ „

In eine Tabelle zusammengefaßt zeigen die Versuche folgende Ergebnisse:

Tabelle IX.

Nr.	Datum	Tierart	Gewicht	Methode der Enteiweißung	1. Aderlaß Blut g	1. Aderlaß Zucker ‰	Art und Menge des Serums	Zeit	2. Aderlaß Blut g	2. Aderlaß Zucker ‰
8	18.II.09	Hund	4100	Hg-Methode	14,842	0,9129	30 ccm Rind.-Ser.	40′	11,999	1,2677
9	8.VII. „	„	7800	Eisenmethode	25,36	0,8758	15 ccm Kan.-Ser.	40′	24,725	1,1834
10	14. „ „	„	7500	„	15,19	0,8133	50 ccm Kan.-Ser.	60′	20,265	0,9839
11	22. „ „	„	11200	„	19,99	0,8034	50 ccm Kan.-Ser.	95′	20,25	0,9349

Oder auf 100 umgerechnet:

Tabelle X.

Nr.	1. Aderlaß	2. Aderlaß	Im Mittel
8	100	139	100 : 128
9	100	135	
10	100	121	
11	100	116	

Wir sehen also, daß normales Serum, in das Venensystem des Hundes injiziert, keinen besonderen Einfluß auf den Blutzucker ausübt; denn die in den Versuchen 8 bis 11 beobachteten Steigerungen des Blutzuckers von 100 auf 128 sind nicht viel erheblicher als die, die nach einfacher Blutentziehung zu bemerken waren (100 : 123).

Wir gingen nun dazu über, das Serum von Kaninchen, die gegen die Erythrocyten eines Hundes immunisiert worden

waren, bezüglich seiner Wirkung auf den Gehalt des Blutes an Zucker zu untersuchen. Die Herstellung des Kaninchenserums ist aus den folgenden Protokollen ersichtlich:

Versuch 12.

40 ccm Hundeblut werden zentrifugiert. Die ausgeschleuderten Blutkörperchen werden 4mal gewaschen und mit 40 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Je 20 ccm werden 2 Kaninchen intraperitoneal injiziert (9. XII. 09). Am 16., 24. XII. 09 und 3., 12., 20. I. 10 werden den Kaninchen gleiche Mengen roter Blutkörperchen intraperitoneal einverleibt. Das Waschen der Erythrocyten hatte den Zweck, durch ihre Injektion ein rein hämolytisches Serum ohne Präcipitine usw. herzustellen. Diese Sera wurden nun zu folgenden Versuchen verwandt.

Versuch 13.

Männlicher Hund von 7800 g.

22. I. 10. 6^h 30'. 1. Blutentziehung von 14,95 g, daran anschließend eine intravenöse Injektion von 45 ccm des hämolytischen Serums vom Kaninchen, dessen Wirksamkeit aus Versuchen in vitro als eine sehr große erkannt worden war, denn es löst in einer Verdünnung von 1:4000 Hundeerythrocyten noch auf.

Schon $^1/_2$ Stunde nach der Injektion trat der Tod des Versuchstieres ein. Aus dem sofort eröffneten Herzen wurden 13,70 g Blut entnommen.

Die Analyse von $^7/_{10}$ dieser entzogenen Blutmenge ergab:

Probe I 0,0225 g CuO
„ II 0,0628 „ „

Dies entspricht den Zuckerwerten von

I 7,732 mg
II 22,970 „

In den ursprünglichen Blutproben waren demnach enthalten:

I 11,045 mg Zucker
II 32,814 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet ergeben sich:

I 0,7388 g Zucker
II 2,3952 „ „

Die Sektion des Hundes ergab eine vollkommene Hämolyse der roten Blutkörperchen, sonst aber keine Veränderungen der Organe. Im Urin der Blase war schon jetzt die Trommersche Probe positiv. Zur Anstellung der Gärungsprobe war die gewonnene Urinmenge nicht hinreichend.

Versuch 14.

28. I. 10. Hund, 5200 g.

5^h 15'. 1. Blutentnahme von 14,77 g aus der A. carotis. Daran anschließend eine Injektion in die V. jugularis ext. von 30 ccm einer Flüssigkeit, die folgendermaßen gewonnen wurde:

Das Zentrifugat (Blutkörperchen, Fibringerinnsel und Serum), das bei der Herstellung des im vorigen Versuch gebrauchten Serums sich absetzte, wurde von neuem mit 0,85%iger Kochsalzlösung aufgenommen und zentrifugiert. Die so erhaltene „Spülflüssigkeit" besaß hämolytische Eigenschaften, deren Titer aus der Tabelle XI ersichtlich ist.

Tabelle XI.

Verdünnung der Flüssigkeit	Blutkörperchen-aufschwemmung 5%	
0,5 ccm 1:1	0,5 ccm	++
0,5 „ 1:1,5	2 „	+
0,5 „ 1:2	2 „	+
0,5 „ 1:4	2 „	−
0,5 „ phys. NaCl-Lösung	2 „	−

In einer Verdünnung von 1 auf 4 Teile 0,85%iger Kochsalzlösung ist also die „Spülflüssigkeit" noch hämolytisch.

6h 10'. 2. Blutentziehung ergibt 14,95 g Blut. Danach nochmalige Injektion von 15 ccm der „Spülflüssigkeit", die vor der Injektion immer auf 56° C 1/2 Stunde lang erwärmt war.

6h 40'. 3. Blutentziehung von 14,71 g.

Die Analyse von je 7/10 der entnommenen Blutmengen ergibt:

I 0,0180 g CuO
II 0,0328 „ „
III 0,0339 „ „

Diesen Werten entsprechen:

I 5,831 mg Zucker
II 12,084 „ „
III 12,626 „ „

In den ursprünglichen Blutproben war demnach enthalten:

I 8,330 mg Zucker
II 17,263 „ „
III 18,037 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet ergibt sich für

Probe I 0,5639 g Zucker
„ II 1,1547 „ „
„ III 1,2262 „ „

Der am Tage nach der Operation gelassene Urin ist stark eiweißhaltig aber frei von Zucker.

Versuch 15.

10. II. 10. Hund von 4700 g.

5h 30'. 1. Blutentnahme von 13,56 g aus der A. carotis. Danach sofortige Injektion von 8 ccm hämolytischen Kaninchenserums, dessen Titer aus Tabelle XII ersichtlich ist.

Tabelle XII.

Menge des Serums ccm	Phys. NaCl-Lösung ccm	Blutkörperchen-aufschwemmung ccm	Hämolyse
0,0	1,0	1	—
0,0	1,0	1	—
0,1	0,9	1	—
0,2	0,8	1	—
0,3	0,7	1	+
0,4	0,6	1	+
0,5	0,5	1	+
0,6	0,4	1	+
0,7	0,3	1	+
0,8	0,2	1	+
0,9	0,1	1	+
1,0	0,0	1	++

6^h 15'. 2. Blutentziehung von 14,52 g, sofortige Injektion von 8,5 ccm des Serums.

6^h 45'. 3. Blutentnahme von 14,36 g.

Die Analyse von je $^7/_{10}$ der entnommenen Blutmengen ergeben:

I 0,0171 g CuO
II 0,0470 „ „
III 0,0520 „ „

Dies entspricht Zuckerwerten von

I 6,042 mg Zucker
II 16,295 „ „
III 18,422 „ „

In den ursprünglichen Proben waren daher enthalten:

I 8,631 mg Zucker
II 23,279 „ „
III 26,317 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet ergibt dies:

I 0,6365 g Zucker
II 1,6032 „ „
III 1,8327 „ „

Der Urin war vor der Operation eiweiß- uud zuckerfrei gewesen.

11. II. 10. Urin dunkelkirschrot. Im Sediment einzelne Zylinder, aber keine Blutkörperchen. Beim Kochen mit Kalilauge schlägt sich ein rotes Sediment nieder (durch Blutfarbstoff gefärbte Phosphate). Die Worm-Müllersche Probe auf Traubenzucker und die Gärungsprobe positiv. Die polarimetrische Bestimmung des Zuckergehaltes ergab im 2 dm-Rohr eine Rechtsdrehung von 0,25°. Da der zur Bestimmung verwandte Urin auf die Hälfte verdünnt ist, so entspricht dies einem Prozentgehalt des unverdünnten Urins von 0,46.

Die Menge des ausgeschiedenen Harnes betrug 160 ccm, die ausgeschiedene Zuckermenge somit 0,736 g. Am 12. II. 10 ist der Urin zuckerfrei, aber noch ebenso stark hämoglobinhaltig. Am Abend des

12. II. Tod des Hundes. Bei der Sektion stark vergrößerte Milz (22 cm lang); Leber: dunkelrote Schnittfläche mit verwaschener Acinuszeichnung. Blut völlig hämolysiert.

Versuch 16.

16. II. 10. Hund 9310 g.

4^h 30'. 1. Blutentnahme von 14,72 g. Sofort danach Injektion von 4 ccm Serum (dasselbe wie in Versuch 15), das nach $^1/_2$stündiger Erwärmung auf 56° C mit 4 ccm NaCl-Lösung verdünnt wurde.

5^h 15'. 2. Blutentnahme (A. carotis) von 13,88 g und Injektion von 2,5 ccm Serum, das mit 2,5 ccm NaCl-Lösung verdünnt ist.

5^h 45'. Letzte Blutentnahme von 16,29 g.

Je $^7/_{10}$ der entnommenen Blutmengen ergaben bei der Analyse:

I 0,0146 g CuO
II 0,0301 „ „
III 0,0292 „ „

Dem entsprechen:

I 4,986 mg Zucker
II 10,943 „ „
III 10,563 „ „

In den ursprünglichen Blutproben waren also enthalten:

I 7,123 mg Zucker
II 15,633 „ „
III 15,09 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet:

I 0,4839 g Zucker
II 1,1263 „ „
III 0,9263 „ „

Der vor der Operation durch den Katheter gewonnene Urin des Hundes war eiweiß- und zuckerfrei. Der Urin vom 17. II. 10 zeigte starken Hämoglobingehalt und eine deutliche Worm-Müllersche Reaktion, die auch am 18. II. noch anzutreffen ist. Der Zuckergehalt war nicht stark genug, um polarimetrisch bestimmt werden zu können. Am 19. II. morgens Tod des Tieres. Pathologisch-anatomischer Befund derselbe wie in Versuch 15.

Versuch 17.

9. III. 10. Hund 6255 g.

Verwendung des gleichen Serums wie in den beiden letzten Versuchen. 1 ccm davon wird auf 10 ccm mit NaCl-Lösung verdünnt.

4^h. 1. Blutentnahme von 15,08 g aus der Art. carotis und Injektion von 5 ccm des verdünnten Serums.

4^h 45'. 2. Blutentnahme von 14,91 g und Injektion derselben Menge Serum (stets $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt).

5^h 15'. 3. Blutentnahme von 14,93 g je $^7/_{10}$ der entzogenen Blutmengen werden analysiert und liefern

I 0,0109 g CuO
II 0,0300 „ „
III 0,0313 „ „

Dem entspricht:

I 3,711 mg Zucker
II 10,901 „ „
III 11,443 „ „

In den ursprünglichen Blutproben waren also enthalten:

I 5,3014 mg Zucker
II 15,573 „ „
III 16,347 „ „

Auf 1000 g Blut berechnet:

I 0,3515 g Zucker
II 1,0445 „ „
III 1,0949 „ „

Der am Tage der Operation vor dieser durch Katheter entleerte Urin war eiweiß- und zuckerfrei. Am 10. II. scheidet der Hund einen dunkelkirschroten Harn ab, der deutlich die Worm-Müllersche Probe gibt, die quantitative Bestimmung ist polarimetrisch aber nicht möglich. Am 11. II. Tod des Tieres unter genau dem gleichen anatomischen Befund wie in Versuch 16. Tabellarisch geordnet und zusammengestellt haben die Versuche 12 bis 16 folgendes Ergebnis gehabt:

Tabelle XIII.

Nummer	Gewicht des Hundes	Datum	1. Aderlaß Blut g	1. Aderlaß Zucker ‰	Menge des Serums	Zeit	2. Aderlaß Blut g	2. Aderlaß Zucker ‰	Menge des Serums	Zeit	3. Aderlaß Blut g	3. Aderlaß Zucker ‰
13	7800	22. I. 10.	14,95	0,7388	45 ccm reines Serum	30′	13,70	2,3952				
14	5200	28. „ „	14,77	0,5639	30 ccm Spülflüssigkeit	55′	14,95	1,1547	15 ccm Spülflüssigkeit	30′	14,71	1,2262
15	4700	10. II. „	13,56	0,6365	8,0 ccm reines Serum	45′	14,52	1,6032	8,5 ccm reines Serum	30′	14,36	1,8327
16	9310	16. „ „	14,72	0,4839	8 ccm auf 16 verdünnt	45′	13,88	1,1263	5 ccm auf 10 verdünnt	30′	16,29	0,9263
17	6255	9. III. „	15,08	0,3515	0,5 ccm auf 5 verdünnt	45′	14,91	1,0445	0,5 ccm auf 5 verdünnt	30′	14,93	1,0949

Werden die Anfangswerte wiederum auf 100 gesetzt, ergibt sich folgendes Zahlenbild:

Nr.	1. Aderlaß	2. Aderlaß	3. Aderlaß	Im Mittel
13	100	324		
14	100	205	217	
15	100	252	288	100:258
16	100	233	191	
17	100	297	312	

Aus diesen Versuchsergebnissen sehen wir auf das deutlichste, daß durch die intravenöse Injektion eines hämolytischen

Kaninchenserums der Zuckergehalt des Blutes von Hunden eine sehr erhebliche Steigerung erfährt (100:258). Diese Erhöhung des Blutzuckergehaltes ist ungefähr ebenso groß wie die, die De Meyer nach Injektion seines „antipankreatischen" Serums, das nicht von Hämolysinen befreit war, erhalten hatte (100:214).

Lassen sich aber die beiden Versuchsreihen, die De Meyers und die meinige, ohne weiteres miteinander vergleichen? Der genannte Autor berichtet nichts von einer Hämoglobinurie, die wir bei unsern Versuchstieren eigentlich regelmäßig beobachten konnten; und außerdem verloren wir fast alle Tiere dieser Reihe nach einem oder wenigen Tagen. Die hämolytische Kraft der Sera, die De Meyer anwandte, mußte also wesentlich geringer gewesen sein als die unserer Sera.

Gegen diesen Einwurf lassen sich aber mehrfach sehr stichhaltige Gründe geltend machen: Einmal habe ich mit dem Auszug des Zentrifugats des hämolytischen Serums in Versuch 16 ebenfalls ganz erhebliche Steigerungen des Blutzuckers beobachtet. Das Tier blieb wochenlang am Leben, und eine Ausscheidung von Hämoglobin war in diesem Versuche nicht mit voller Sicherheit zu konstatieren. Weiterhin haben wir gerade mit nur 1 ccm unseres Serums, das auf das 10fache verdünnt wurde, die größten Blutzuckersteigerungen erhalten, so daß man annehmen muß, daß diese Blutveränderungen von der Menge des injizierten Serums in weitesten Grenzen unabhängig sind.

Daß die von De Meyer angewandten Sera hämolytisch waren, geht aus seiner Arbeit deutlich hervor.[1]) Aber die Mengen des Hämolysins, die den Tieren injiziert wurden, dürften auch nicht so ganz geringe gewesen sein, da verhältnismäßig große Mengen „antipankreatischen" Serums verabreicht werden mußten, um überhaupt die gewollten Blutveränderungen zu erhalten. Wenn man bedenkt, wie geringe Mengen artfremden Blutes schon die Bildung spezifischer Hämolysine auslösen — nach Friedberger und Dörner genügen schon 0,000025 g — so wird man sich dem Gedanken nicht verschließen können, daß die Mengen Hämolysins, die der genannte Forscher verabreichte, keineswegs geringe gewesen waren.

[1]) Durch die Erwärmung der Sera auf 56° wird nur das Komplement und nicht der Amboceptor zerstört.

Vergleichen wir noch einmal tabellarisch geordnet die Ergebnisse De Meyers mit unseren Versuchsresultaten, so müssen wir zu folgenden Schlüssen kommen:

Tabelle XV.

Steigerung des Blutzuckergehalts	im Verhältnis von	Autor
1. nach einfachem oder mehrmaligem Aderlaß	100:123	Eigene Versuche
2. nach Injektion eines von Hämolysinen befreiten „antipankreatischen" Serums und Blutentziehung	100:130	De Meyer
3. nach Injektion eines normalen artfremden Serums und Blutentziehung	100:128	Eigene Versuche
4. nach Injektion eines hämolytischen Kaninchenserums	100:258	„ „
5. nach Injektion eines von Hämolysinen nicht befreiten „antipankreatischen" Serums . . .	100:214	De Meyer

Die Steigerungen des Blutzuckergehaltes, die De Meyer mit Hilfe seines „antipankreatischen" Serums, das von Hämolysinen und Agglutininen befreit war, erhielt, fallen in den Bereich der Fehlergrenzen, die durch die zum Zwecke der Analyse notwendige Blutentziehung bedingt sind. Die größeren Erhöhungen des Blutzuckergehaltes infolge Injektion des Hämolysine und Agglutinine enthaltenden „antipankreatischen" Serums müssen aber nach unseren Versuchen auf den Gehalt an Hämolysinen zurückgeführt werden und nicht auf die Wirkung von Substanzen, die die innere Sekretion des Pankreas aufheben.

Was nun die Glukosurie anbetrifft, so muß hervorgehoben werden, daß De Meyer in allen seinen Versuchen, in denen er antipankreatisches Serum injizierte, eine Zuckerausscheidung durch den Urin beobachten konnte. Auch wir haben mit einer Ausnahme in allen den Versuchen, in denen hämolytisches Serum verabreicht wurde, eine deutliche Glukosurie konstatieren können, die in Versuch 15 bis zum Werte von 4,6‰ anstieg.[1])

[1]) Hierher gehört auch ein Experiment, das in der Weise angestellt wurde, daß einem Kaninchen ein für Kaninchenerythrocyten hämolytisches Serum intravasculär injiziert wurde und die Entleerung eines Urins bedingte, der neben Spuren von Hämoglobin Traubenzucker enthielt,

In den Versuchen, in denen nur die Wirkung der Blutentziehung untersucht wurde, war eine Zuckerausscheidung durch den Harn nicht zu konstatieren. In den Experimenten, in denen außerdem artfremdes Serum injiziert wurde, haben wir es leider verabsäumt, den Urin auf etwaigen Zuckergehalt zu untersuchen. Doch ist es zweifellos, daß die Injektion artfremden Serums Zuckerausscheidung durch den Urin bedingen kann, wie folgender Versuch beweist:

Versuch 18.

24. IX. 08. Mittelgroßer männlicher Hund. Urin frei von Eiweiß und Zucker. Intraperitoneale Injektion von 10 ccm Kaninchenserum. Der an demselben Tage gelassene Urin zeigte deutlich positive Trommersche Reaktion und Gärungsprobe. Polarimetrisch ist Rechtsdrehung zu konstatieren.

In der Frage, warum in den einfachen Blutentziehungsversuchen eine Zuckerausscheidung nicht aufgetreten ist, trotz Steigerung des Blutzuckers, dagegen nach der Injektion von artfremdem Serum beobachtet werden konnte, besonders wenn dieses hämolytisch war, möchten wir zu der Erklärung unsere Zuflucht nehmen — in Anlehnung an eine Ansicht De Meyers —, daß artfremdes Serum die Nieren möglicherweise so zu schädigen imstande ist, daß sie ähnlich wie nach Verabreichung von Phloridzin für den Blutzucker durchgängig werden, obwohl der Blutzuckergehalt noch nicht pathologische Werte (mehr als $3\,^0/_{00}$) erreicht hat.

Anhangsweise sei es mir gestattet, noch ein Ergebnis zu erwähnen, das die mikroskopische Untersuchung der Bauchspeicheldrüsen derjenigen Kaninchen lieferte, die zur Herstellung des hämolytischen Serums verwandt wurden. Während die Langerhansschen Zellgruppen der Tiere, die zur Herstellung des antipankreatischen Serums dienten, sich in nichts von denen des normalen Kaninchenpankreas unterscheiden, bieten die Inseln der eben erwähnten Tiere ein recht pathologisches Bild dar.

Ohne Ausnahme ist eine Vergrößerung der Zellkomplexe zu konstatieren, die oft das 2 bis 3fache der normalen Größe erreichen. Diese Vergrößerung scheint dabei weniger auf eine Vermehrung der Zellelemente als vielmehr, und das ist das Auffallendste, auf ein äußerst starkes, nur die Langerhansschen Inseln betreffendes Ödem zurückgeführt werden

---

wie die Gärungsprobe und die Worm-Müllersche Reaktion zeigte. Polarimetrisch ließ sich eine Rechtsdrehung nachweisen, die 0,33% Traubenzucker entsprach. In den 155 ccm Urin waren also 5,115 g Zucker. Das Tier blieb am Leben.

zu müssen. Die einzelnen Zellstränge werden dabei stark auseinander gedrängt und sind durch runde, deutlich als Flüssigkeitsansammlung sich kennzeichnende Zwischenräume getrennt. Da die Fixierung des Pankreas stets in Sublimat-Eisessig erfolgte, so kann von einer Schrumpfung nicht die Rede sein.

Zum Schlusse seien die Ergebnisse der beschriebenen Versuche in folgende Sätze zusammengefaßt:

1. In Übereinstimmung mit Schenk und anderen Autoren finden wir, daß durch Blutentziehung der Blutzuckergehalt erhöht wird.

2. Die Größe dieser Blutzuckervermehrung ist von der Menge des entzogenen Blutes in weiten Grenzen unabhängig.

3. Die intravenöse Injektion von artfremdem Serum erzeugt bei Hunden keinen Anstieg des Blutzuckergehaltes, der viel größer wäre als der durch die Blutentnahme hervorgerufene.

4. Die intravenöse Injektion von Kaninchenserum, das für die roten Blutkörperchen des Hundes hämolytisch ist, bewirkt bei Hunden eine erhebliche Steigerung des Blutzuckergehaltes, und zwar um das 2 bis 3fache des ursprünglichen Wertes, während die durch Blutentziehung bedingte nur das 1 bis 2fache betrug.

5. Nach Injektion von artfremdem Serum ist eine Ausscheidung von Zucker durch den Urin möglich.

6. Nach Verabreichung von hämolytischem Serum tritt bei den Versuchstieren (Hund und Kaninchen) eine deutliche Glukosurie auf.

7. Durch diese experimentelle Untersuchung ist der Nachweiß geliefert, daß es bisher keinem Forscher gelungen ist, ein antipankreatisches Serum gegen die innere Sekretion herzustellen.

8. Es sind in der vorliegenden Arbeit eine Reihe von Fehlerquellen aufgedeckt worden, die bei Versuchen, ein für das Pankreas toxisches Serum herzustellen, in Zukunft berücksichtigt werden müssen.

Zur Kenntnis des Kalkstoffwechsels unter Berücksichtigung des Stoffwechsels der Phosphorsäure und der Magnesia.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Martin Kochmann.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.)

(*Eingegangen am 22. Mai 1910.*)

Um mir die Möglichkeit der Mitarbeit auf dem offenbar von verschiedenen Seiten in Angriff genommenen Gebiet des Kalkstoffwechsels zu erhalten und zu sichern, möchte ich die Ergebnisse meiner Versuche, die ich seit über 1 Jahre zum Teil gemeinschaftlich mit Herrn cand. med. Petzsch unternommen und nunmehr fertig gestellt habe, kurz veröffentlichen, ohne vorläufig die Literatur zu berücksichtigen.

1. Beim ausgewachsenen Hunde ist es unter normalen Verhältnissen unmöglich, für den Kalk (im Gegensatz zu anderen Bestandteilen der Nahrung) eine Minimalmenge als notwendig für die Erhaltung des Gleichgewichts anzugeben, denn:

2. Die Kalkbilanz wird durch die Menge des aufgenommenen Eiweißes, Fettes und wahrscheinlich auch der Kohlenhydrate dergestalt beeinflußt, daß durch eine Zulage dieser Substanzen zu der ursprünglichen Nahrung der Kalk in erheblichem Grade vom Organismus abgegeben wird.

3. Durch Zulage von Kalk zu der veränderten Nahrung läßt sich immer wieder Kalkgleichgewicht und sogar Ansatz herstellen. Die therapeutische Wirkung des Kalks wird dadurch in gewisser Hinsicht erklärt.

4. Die Minimalmenge von Kalk, die zur Aufrechterhaltung des Gleichgewichts nötig ist, richtet sich demnach nach der Nahrung und muß für jede Nahrung besonders bestimmt werden.

5. Der Kalkstoffwechsel kann infolge dieser Umstände sehr hohe Werte annehmen. Diese Verhältnisse gehen aus den folgenden Angaben deutlich hervor:

Periode von		Tägliche Nahrung	Tägliche N-Bilanz g	Tägliche CaO-Bilanz g
A	5 Tag.	160 g Pferdefleischpulver + 500 ccm H_2O . .	− 1,110	− 0,405
	4 „	160 g „ + 500 „ „		
		+ 0,563 g CaO (als $CaCl_2$)	− 1,816	± 0,032
	5 „	220 g Pferdefleischpulver + 500 ccm H_2O		
		+ 0,563 g CaO (als $CaCl_2$)	− 0,214	− 0,512
B	5 „	750 g Konservenfleisch + 150 ccm H_2O		
		+ 0,512 g CaO	+ 1,433	− 0,562
	5 „	750 g Konservenfleisch + 150 ccm H_2O		
		+ 0,512 g CaO + 50 g Fett	+ 1,438	− 1,459
	5 „	750 g Konservenfleisch + 150 ccm H_2O		
		+ 2,696 g CaO + 50 g Fett	+ 2,696	+ 0,817

6. Der Magnesiastoffwechsel wird vom Eiweiß, Fett und den Kohlenhydraten der Nahrung nicht in demselben Sinne beeinflußt wie der des Kalks, scheint vielmehr ziemlich unabhängig zu sein.

7. Der Phosphorsäurestoffwechsel wird sowohl von dem des Eiweißes wie von dem des Kalks beeinflußt, wobei natürlich nicht ausgeschlossen zu werden braucht, daß auch noch andere Faktoren auf ihn einwirken.

Beispiel:

N-Bilanz g	CaO-Bilanz g	P_2O_5-Bilanz g
+ 1,699	− 0,558	+ 0,120
+ 1,438	− 1,459	− 0,260
+ 2,696	+ 0,817	+ 0,622

8. Dieses eigentümliche Verhalten des Kalks läßt sich am besten durch die Annahme erklären, daß durch ihn schädliche oder unnütze Stoffwechselprodukte und Schlacken gebunden, unschädlich gemacht und aus dem Körper hinausgeleitet werden.

Zur Technik der Durchströmung überlebender Organe.

Von

E. Friedmann.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. Mai 1910.)

Mit 11 Figuren im Text und auf 2 Tafeln.

Die Ludwigsche Durchströmungsmethode überlebender Organe ist durch die Apparatur, die Embden und Glaeßner[1]) für diese Experimente angegeben haben, eine recht einfache geworden.

Die Anwendungsmöglichkeit der von Embden und Glaeßner eingehaltenen Technik hat aber eine Grenze, wenn die Notwendigkeit vorliegt, mit möglichst kleinen Blutmengen die Durchströmungsversuche auszuführen. Diese Notwendigkeit trat uns entgegen, als wir mit Hilfe der Ludwigschen Methode die Bildung der Harnsäure in der Vogelleber und die Entstehung der Hippursäure in der Kaninchenleber zu untersuchen anfingen. Wir waren daher genötigt, uns nach einer Technik umzusehen, die das Arbeiten mit kleinen Blutmengen gestattete.

Für diese Zwecke sind zwei Apparate beschrieben worden. Der eine stammt von Brodie[2]), der andere von Mandel[3]). Beide Versuchsanordnungen ermöglichen in automatischer Weise das Arbeiten mit kleinen Blutmengen. Wir haben beide Apparate benutzt und versucht, ihre Vorzüge zu kombinieren. Diese Bemühungen führten zur Konstruktion einer neuen Durchblutungspumpe, die sich uns in zahlreichen Versuchen bewährt hat, und die daher im folgenden in den beiden Modifikationen A und B beschrieben werden soll.

---

[1]) Gustav Embden und Karl Glaeßner, Beiträge z. chem. Physiol. und Pathol. 1, 313, 1902.

[2]) T. G. Brodie, Journ. of Physiol. 29, 267, 1903.

[3]) F. Mandel, Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik 1, 44, 1909.

Beschreibung der Durchblutungspumpe A.[1])

Fig. 1 (Tafel I) und Fig. 9 (Tafel II) geben zwei Übersichtsbilder über die Pumpenanlage A. Fig. 1 ist so dargestellt, daß die Kulisse vorne und die Friktionsscheibe hinten gesehen wird, während in Fig. 9 (Tafel II) sich die Friktionsscheibe sowie die Kulisse hinten befindet.

Zur näheren Erläuterung der Konstruktion der Pumpenanlage A dienen die Fig. 2, 3 und 4, die der folgenden Beschreibung zugrunde gelegt sind.

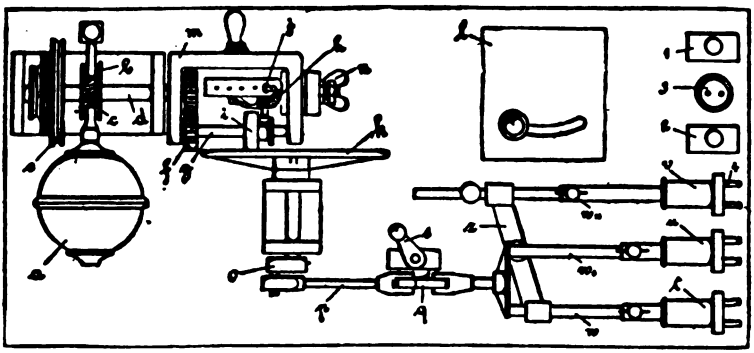


Fig. 2.

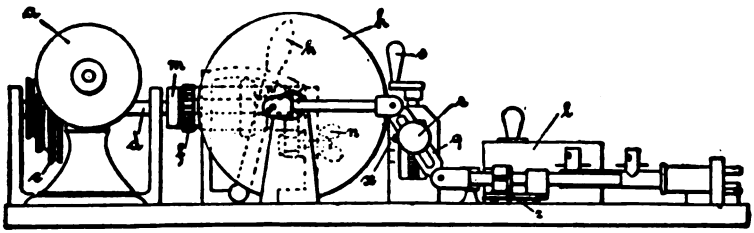


Fig. 3.

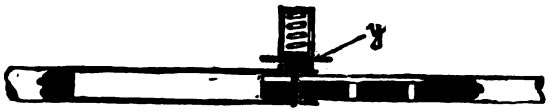


Fig. 4.

[1]) Die erste Anlage dieser Pumpe ist von dem Universitätsmechaniker Oehmke (Berlin) ausgeführt worden. Das Lagerungsgestell ist von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf angebracht worden. Seine definitive Gestalt hat der Apparat durch den Mechaniker M. Marx, Berlin NW. 7, Georgenstr. 34—36, erhalten.

Als Kraftquelle dient Gleichstrom. Dieser wird dem Apparat durch die Einsteckdose *3* (Fig. 2) zugeführt, passiert die beiden Sicherungen *1* und *2* (Fig. 2), darauf den Regulierwiderstand *l* (Fig. 2 und 3) und tritt dann in den Gleichstrommotor *a* (Fig. 2 und 3) ein.

Der Motor *a* treibt durch eine auf seiner Achse befindliche Schnecke *b* (Fig. 2) das Schneckenrad *c* (Fig. 2) und hierdurch die Welle *d* (Fig. 2 und 3). Durch eine Zahnradübertragung *f* (Fig. 2 und 3) geht die Bewegung der Welle *d* (Fig. 2) auf die Nutenwelle *g* (Fig. 2) über. Mit der Welle *g* (Fig. 2) ist das Friktionsrad *i* (Fig. 2) durch einen Stift gekuppelt und kann auf dieser mittels des Hebels *h* (Fig. 2 und 3) verschoben werden. Der Hebel *h* (Fig. 2) wird durch einen Stift *j* (Fig. 2) in der jeweilig gewünschten Lage festgehalten. Diese Anordnung ermöglicht die Friktionsscheibe *k* (Fig. 2 und 3) auch während des Versuches auf verschiedene Tourenzahlen einzustellen. Zum Anpressen des Friktionsrades *i* (Fig. 2) an die Scheibe *k* (Fig. 2) dient der Bügel *m* (Fig. 2), der zentrisch um die Achse *d* (Fig. 2) drehbar angeordnet ist. Der Bügel *m* wird durch Anziehen der Flügelmutter *n* (Fig. 2) in seiner Lage festgehalten.

Die Friktionsscheibe *k* überträgt die Bewegung mittels der Kurbel *o* (Fig. 2) und der Pleuelstange *p* (Fig. 2) auf die Kulisse *q* (Fig. 2 und 3). Diese ist mit den Kolbenstangen *w*, w_1, w_2 verbunden, deren Bewegungen die zugehörigen Pumpen *t*, *u*, *v* (Fig. 2) in Gang setzt. Die Pumpen führen für Schlauchverbindungen zwei Ansatzstücke, die vom Pumpenzylinder durch zwei entgegengesetzt wirkende Ventile getrennt sind, sodaß die zirkulierende Flüssigkeit an dem einen Ansatzstück angesaugt und durch das andere ausgepreßt wird.

Der Drehpunkt der Kulisse *q* (Fig. 3) ist durch die Handkurbel *s* (Fig. 3) verstellbar und wird durch Anziehen der Schraube *r* (Fig. 3) fixiert. Hierdurch können die Hubgrößen der Pumpen *t*, *u* und *v* (Fig. 2) reguliert werden.

Bei Verringerung der Hubgröße wird im Pumpenzylinder ein toter Raum geschaffen, durch den Flüssigkeit der Zirkulation entzogen wird. Zur Vermeidung der toten Raum-

bildung muß daher eine Anordnung getroffen werden, bei der der Füllungsgrad der Pumpe der jeweiligen Hubgröße entspricht. Dies geschieht durch Regulierung der wirksamen Kolbenlänge. Zu diesem Zwecke ist an der Kulisse ein Nonius x (Fig. 3) angebracht, der abzulesen gestattet, auf welche Hubgröße die Pumpe eingestellt ist. Um den Füllungsgrad der Pumpe der Hubgröße anzupassen, wird die Kolbenstange aus zwei Stücken konstruiert (Fig. 4), von denen das eine massiv, das andere hohl ist. Das hohle Stück kann über das feste Stück gestülpt werden und durch Einklinken des Stiftes y (Fig. 4) an der gewünschten Stelle des massiven Teiles befestigt werden. Auf diese Weise lassen sich die Kolbenstangen beliebig verlängern oder verkürzen. Um Irrtümer zu verhüten, sind an der Kulisse und an den Kolbenstangen einander entsprechende Marken angebracht.

Soll eine Pumpe nicht gebraucht oder entkuppelt werden, so wird der Stift y hochgezogen und in einem Bajonettverschluß eingeklinkt (Fig. 4).

Wie aus der Beschreibung hervorgeht, erlaubt die Konstruktion der Durchblutungspumpe A ein kontinuierliches Arbeiten und eine Regulation sowohl der Geschwindigkeit der Pumpe wie ihrer Hubgröße während des Versuchs unter Vermeidung der toten Raumbildung im Pumpenzylinder.

Das Anbringen mehrerer Pumpen dient dazu, eine Unterbrechung des Arbeitens durch Reinigung der benutzten Pumpe oder durch frisches Abdichten des Pumpenkolbens oder der Ventile zu verhüten. Die Lagerung der Pumpen ermöglicht ferner, die Frage nach dem Zusammenarbeiten mehrerer Organe im Durchströmungsversuch bei kombinierter Durchblutung dieser Organe experimentell anzugehen.

Ein Nachteil der Konstruktion der Pumpenanlage A liegt in folgendem. Durch Anpressen des kleinen Friktionsrades an das große findet eine geringe Verschiebung der Zahnräder in der Zahnradübertragung f (Fig. 2 und 3) statt. Hierdurch werden die Zahnräder frühzeitig abgeschliffen und müssen durch neue ersetzt werden. Dieser Übelstand ist bei der Konstruktion der Durchblutungspumpe B vermieden worden.

Beschreibung der Durchblutungspumpe B.[1])

Fig. 5 (Tafel I) zeigt die Durchblutungspumpe B im Übersichtsbild.

In Fig. 6 und Fig. 7 sind Teile der Durchblutungspumpe B wiedergegeben.

Fig. 6 stellt das Reibungsvorgelege der Durchblutungspumpe B in Projektion dar. Dieses Reibungsvorgelege reguliert die Übertragung der Bewegung von der Kraftquelle auf die Arbeitsachse. Seine Beschreibung wird im folgenden gegeben.

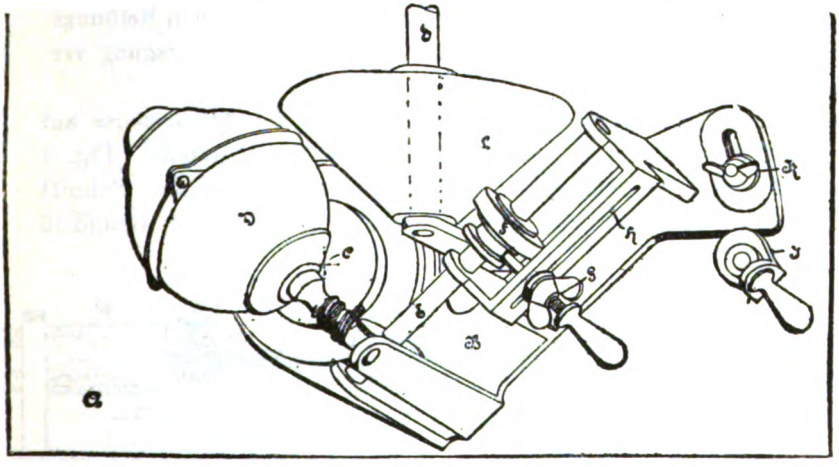


Fig. 6.

Auf der Grundplatte *a* (Fig. 6) befindet sich ein drehbares Lagergestell, das um eine Achse, die senkrecht zur Ebene der Grundplatte steht, gedreht werden kann. Das Lagergestell trägt die Kraftquelle, den Elektromotor *D* und die Lageranordnung *C*. Die Kraftquelle setzt die Achse *E* durch Schneckenübertragung in Umdrehung. Auf der Achse befindet sich das kleine zylindrische Reibungsrad *F*, das, durch Keilführung in der Achse gehalten, die Umdrehungen dieser mitmachen muß. Es kann durch den Stellstift *g*, der in den Schlitz *h* geführt ist, seitlich verschoben und durch Anziehen einer Flügelmutter in der gewünschten Lage befestigt werden. Durch die Umdrehung des kleinen Friktionsrades *F* wird die große konische Reibungs-

[1]) Die Durchblutungspumpe B habe ich mit Hilfe des Mechanikers M. Marx, Berlin NW. 7, Georgenstr. 34—36, konstruiert.

scheibe L in Bewegung gesetzt, deren Mantelfläche parallel zur Achse des kleinen Friktionsrades F verläuft. Mit der konischen Scheibe L ist die Arbeitsachse d fest verbunden. Durch Einstellen des kleinen Friktionsrades auf die verschiedenen Radien des großen Reibungsrades kann man die Geschwindigkeit der großen Reibungsscheibe und hierdurch auch der Arbeitsachse nach Belieben regulieren. Die Exzenteranordnung J und die Feststellung K dienen dazu, das Lagergestell und damit die kleine Friktionsscheibe G genügend fest an die konische Scheibe L anzudrücken. Da das Lagergestell auf der Grundplatte beweglich ist (siehe oben), wird beim Andrücken des kleinen Reibungsrades jede Verschiebung innerhalb der Zahnradübertragung vermieden.

Die Übertragung der Bewegung von der Arbeitsachse auf die Pumpenstangen sind in Fig. 7 und 8 dargestellt. Fig. 7 gibt eine Seitenansicht der Pumpe mit teilweisem Schnitt wieder, während Fig. 8 den teilweise geschnittenen Grundriß zeigt.

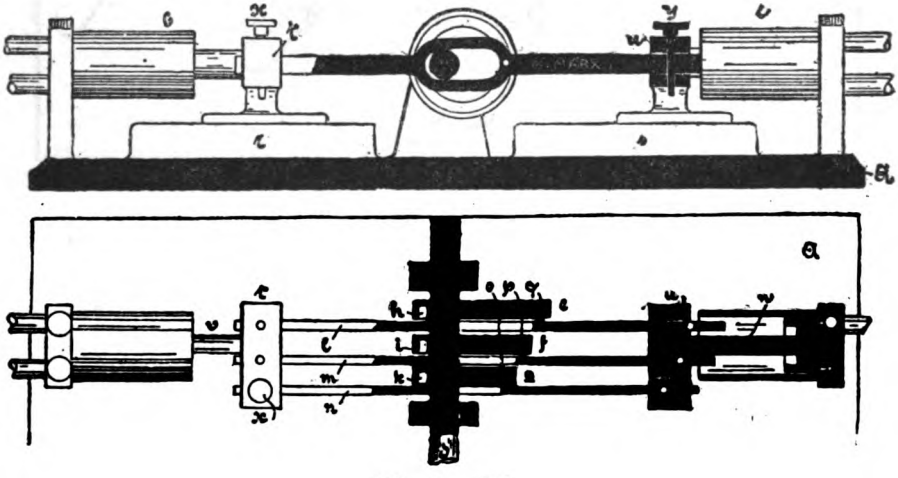


Fig. 7 und 8.

Auf der Grundplatte wird eine oder mehrere Pumpen — auf der Zeichnung zwei doppeltwirkende Pumpen b und c (Fig. 7) — befestigt. Die Kolben der Pumpe stehen senkrecht zur Arbeitwelle d (Fig. 8). Diese trägt mehrere verschieden große Exzenterscheiben — auf der Zeichnung drei Exzenter-

scheiben *e*, *f* und *g* (Fig. 8) —, von denen jede einer bestimmten Hubgröße der Pumpe entspricht, und deren Anzahl davon abhängt, wie viel Möglichkeiten zum Variieren der Pumpenfüllung ausgenutzt werden sollen. An jeder dieser Scheiben befindet sich je eine Schieberstange *l*, *m*, *n* (Fig. 8), die in den exzentrischen Nuten *h*, *i* und *k* (Fig. 8) bei den Bewegungen der Exzenterscheiben von diesen zwangsläufig durch die Stifte *o*, *p*, *q* (Fig. 8) mitgenommen werden.

Zur Übertragung der Bewegung von den Schieberstangen auf die Kolbenstangen *v* und *w* (Fig. 8) sind die in den Schlitten *r* und *s* (Fig. 7) geführten Kreuzköpfe *t* und *u* (Fig. 7 und 8) mit den Kolben *v* und *w* fest verbunden. Die Kreuzköpfe besitzen der Exzenterzahl entsprechend Schlitze für die Stäbe *l*, *m* und *n*. Sowohl in den Kreuzköpfen wie in den Stäben sind einander entsprechende Bohrungen angebracht. Durch Einführung der Stifte *x* und *y* (Fig. 7 und 8) in diese Bohrungen werden Schieberstange und Kolbenstange miteinander verriegelt. Die Längen der Schieberstangen bis zu dem Verriegelungsloch entsprechen der Größe der Exzenterscheiben. Durch Einführung der Stifte *x* und *y* werden die Kolbenstangen gezwungen, die Bewegungen der zugehörigen Exzenterscheiben auszuführen und können bei Vermeidung der toten Raumbildung im Pumpenzylinder bei angeschlossener großer Scheibe große, bei gekuppelter kleiner Scheibe kleine Füllungen des Pumpenzylinders hervorrufen.

Beschreibung der Durchblutungsanordnung.

Die Durchblutungsanordnung ist mit geringfügigen Modifikationen der Apparatur von Brodie nachgebildet.

Jede der Durchblutungspumpen besitzt zwei Ansatzstücke für zwei Schläuche. Der eine Schlauch führt durch Saugwirkung das vom Organ strömende Blut in die Pumpe, der andere durch Druckwirkung das Blut von der Pumpe in das Blutreservoir. Ein Übersichtsbild über den so hergestellten Kreislauf gibt Fig. 9 (Tafel II).

Das Blutreservoir befindet sich in einem mit Wasser von 37° gefüllten Wärmekasten, der zwei mit Gummistopfen versehene Öffnungen hat. Beide Gummistopfen werden von Ansatzstücken des Blutreservoirs durchbohrt, durch die die Kommunikation des Blutreservoirs mit der Pumpe einerseits und mit dem Organ andererseits hergestellt wird.

Die Verbindung des Blutreservoirs mit dem Schaumreservoir und dem Luftblasenfänger ist in Fig. 10 (Tafel II) dargestellt.

Wie Fig. 10 zeigt, besteht das Blutreservoir aus zwei Kugeln, von denen die kleinere an den kurzen Hals der größeren angeschmolzen ist und von dieser durch ein engmaschiges Silbernetz getrennt ist. Die kleine Kugel dient zum Abfangen des ersten Schaumes. In dem Halse der kleinen Kugel befindet sich ein doppelt durchbohrter Gummistopfen, durch dessen eine Bohrung ein rechtwinklig gebogenes, capillar ausgezogenes Rohr auf die tiefste Stelle der großen Kugel führt. An seinem kurzen Ende trägt das Rohr einen mit Quetschhahn versehenen Gummischlauch, der als Ansatzstück beim Einleiten von Sauerstoff zu Beginn der Durchblutung dient. Durch die zweite Bohrung ist ein kurzes, rechtwinklig gebogenes, mit Gummistopfen versehenes Rohr geführt, das in den Hals des Schaumreservoirs mündet. Dieses ist eine Glaskugel, die zwei Ansatzstücke hat. An ihrem tiefsten Punkte ist ein kurzes Rohr angeschmolzen, das mit Gummiansatz und Quetschhahn versehen ist. Durch Öffnen des Hahnes kann das aus dem Schaume sich absetzende Blut abgelassen und dem Kreislauf wieder zugeführt werden. An einem möglichst hohen Punkte des Schaumreservoirs befindet sich ein zweites Ansatzstück, das durch Schlauchverbindung in den Hals einer Saugflasche mündet, in der gegebenenfalls der aus dem Schaumreservoir übersteigende Schaum aufgefangen wird. Das Schaumreservoir ist in der aus Fig. 9 ersichtlichen Weise mit einem Überdruckventil und dem Manometer verbunden.

Zur Verbindung des Blutreservoirs mit dem Organ (Fig. 10) ist die große Kugel an ihrem tiefsten Punkte zu einem rechtwinklig gebogenen Ansatzstück ausgezogen, das einen in der Wand des Wärmekastens befindlichen Gummistopfen durchbohrt, und an dem sich, durch einen dickwandigen Schlauch festgehalten, der mit einem kleinen Thermometer versehene Blasenfänger anschließt. Der Blasenfänger besteht aus einer kleinen Kugel, in die zwei gebogene, capillar ausgezogene Rohre münden. Das zuführende Rohr mündet an der höchsten Stelle, das abführende Rohr an der tiefsten Stelle der Kugel. Durch einen angeschmolzenen Glashahn können die Luftblasen aus dem Blasenfänger entfernt werden. Das abführende Rohr trägt in einer kleinen Ausbuchtung das Thermometer, das die Temperatur-

messung des einströmenden Blutes unmittelbar vor seinem Eintritt in das Organ gestattet.

Das aus dem Organ abfließende Blut strömt in einen rechtwinklig gebogenen Vorstoß (Fig. 8), der durch eine an der Wand des Wärmekastens befestigte Klammer gehalten wird. Der Vorstoß enthält in seinem oberen Teile ein leicht austauschbares Gazesieb, in dem feine Gerinnsel zurückgehalten werden. In seinen unteren Teil ist eine Capillare eingeschmolzen, durch die der Sauerstoff während der Durchblutung eingeleitet wird. Das verjüngte Ende des Vorstoßes führt das Blut zur Pumpe zurück.

Sollte durch mangelhafte Gefäßunterbindung eine Blutung entstehen, so fließt dieses Blut aus dem Organbehälter in einen Sammelzylinder und kann aus diesem wieder durch einen in den Vorstoß mündenden Gummischlauch zurückgesaugt werden.

Um den Apparat in Gang zu setzen, leitet man bei geöffnetem Hahn des Blasenfängers Sauerstoff in das Blutreservoir ein und stellt den Apparat durch Regulation des Überdruckventils auf den gewünschten Druck ein. Hierbei ist der zum Organ führende Schlauch abgeklemmt. Durch wiederholtes Öffnen und Schließen des Hahnes am Blasenfänger wird die Luft aus den Glasteilen vertrieben. Das hierbei ausfließende Blut wird in demselben Zylinder gesammelt, in den das etwa aus dem Organ abtropfende Blut fließt, und später durch Saugwirkung wieder in den Vorstoß befördert. Ist die Luft aus dem Blasenfänger vollständig vertrieben, so wird die Klemme an dem zum Organ führenden Schlauch gelöst und unter Einhaltung der bekannten Vorsichtsmaßregeln der Schlauch mit der zuführenden Kanüle verbunden. Die erste Portion des aus dem Organ abfließenden Blutes wird besonders aufgefangen, mit Glasperlen gründlich durchgeschüttelt, wiederholt koliert und in den Sammelzylinder gegossen. Ist eine ausreichende Menge Blut abgeflossen — etwa 50 ccm —, so wird der vom Organ führende Schlauch mit dem Vorstoß verbunden, die Zuführung des Sauerstoffs durch Anziehen der Klemme am Einleitungsrohr unterbrochen, die Capillare des Vorstoßes mit dem Zuführungsschlauch des Sauerstoffbehälters verbunden und die Pumpe in Gang gesetzt. Die Zirkulation ist jetzt hergestellt und kann beliebig lange fortgesetzt werden.

Bei Ausführung der Durchblutungsversuche in der von Embden angegebenen Weise hat sich mir ein kleiner Glasapparat[1]) bewährt, der gleichzeitig zum Abfangen von Luftblasen und zum Messen von Temperatur und Druck dient. Er ist in Fig. 11 abgebildet.

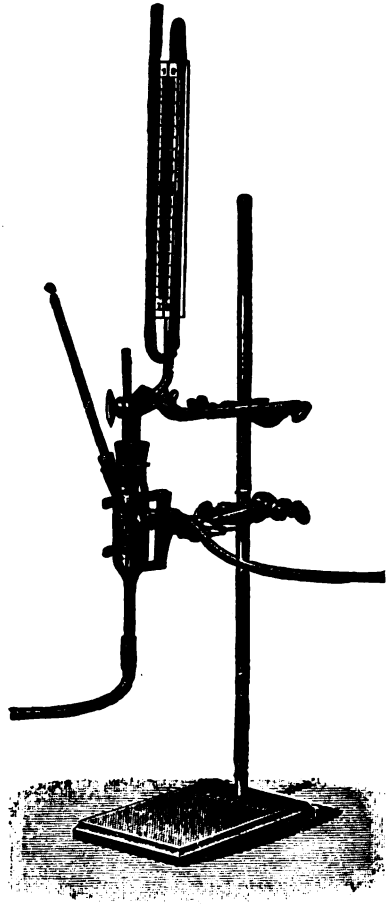


Fig. 11.

Er besteht aus einem Glaszylinder, in dessen unteres Ende ein gerades Rohr eingeschmolzen ist. Seitlich ist in den Zylinder ein zweites, rechtwinklig gebogenes, bis nahe an sein unteres Ende führendes Rohr eingeschmolzen. Das obere Ende des Zylinders ist durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrungen ein Glashahn und ein Manometer geführt werden. In einem am oberen Ende seitlich und schräg angeschmolzenen Ansatzstück befindet sich das Thermometer.

Das Blut strömt von der Heizschlange durch das gerade Rohr bei geöffnetem Hahn in den Zylinder. Hierbei ist der von dem rechtwinklig gebogenen Rohr zum Organ führende Schlauch abgeklemmt. Ist der Zylinder gefüllt, so wird der Hahn geschlossen, die Klemme gelöst und das Organ mit dem zuführenden Schlauch verbunden.

[1]) Der Apparat ist von der Firma Paul Altmann, Berlin NW., Luisenstr. 52, angefertigt worden.

Biochemische Zeitschrift Band 27.

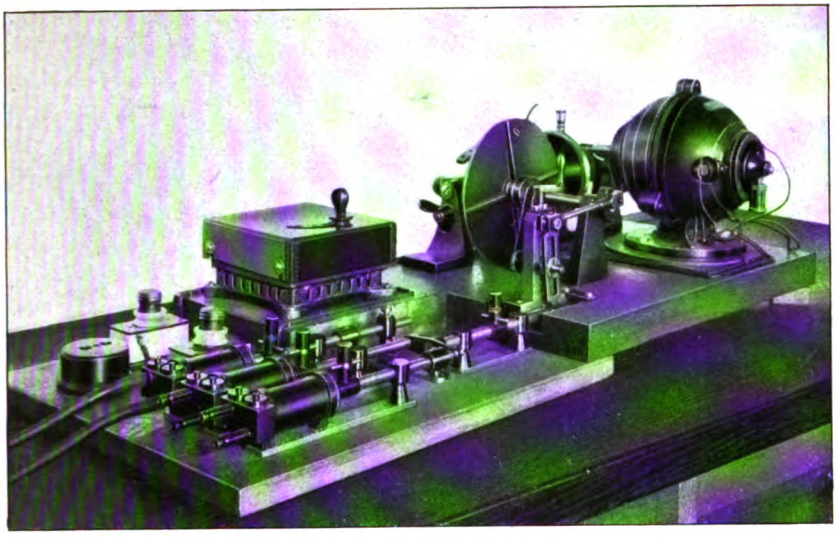


Fig. 1.

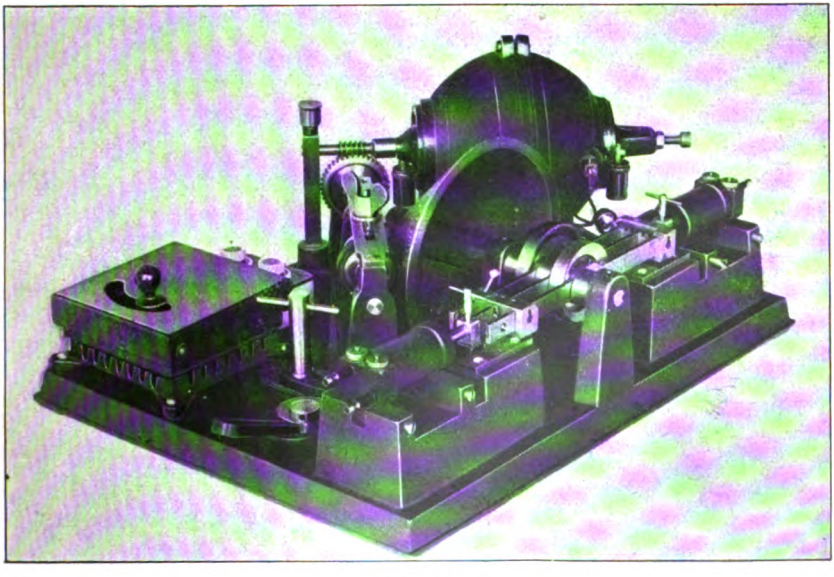


Fig. 5.

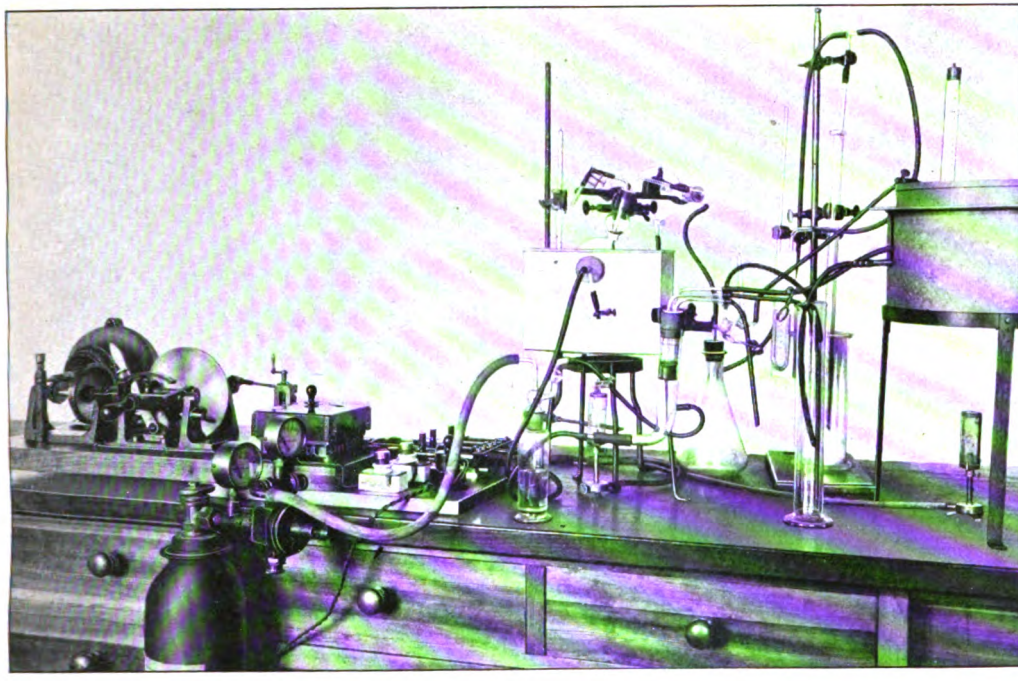


Fig. 9.

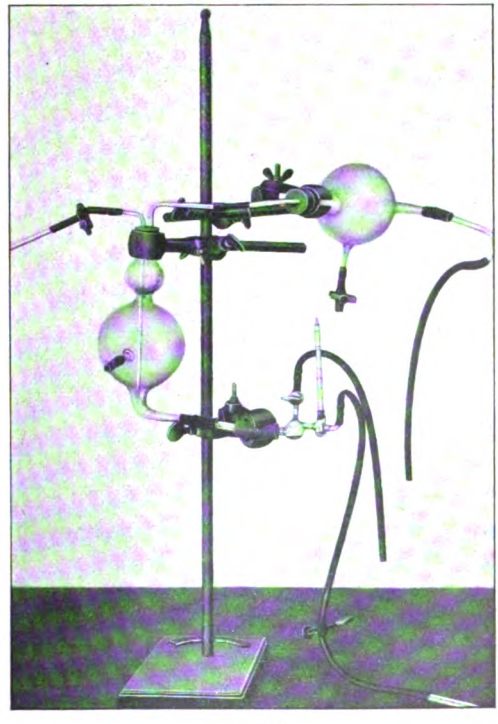


Fig. 10.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

IX. Mitteilung.

Verhalten des p-Chlorphenylalanins, der p-Chlorphenylbrenztraubensäure und der p-Chlorphenylmilchsäure im Tierkörper.[1])

Von

E. Friedmann und C. Maase.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. Mai 1910.)

Die Umlagerung, die sich beim Abbau des Tyrosins zu Homogentisinsäure im Organismus des Alkaptonurikers abspielt, zeigt eine so auffallende Analogie zu den Umlagerungen der Chinole, daß die Annahme der intermediären Bildung chinolartiger Produkte beim Übergang des Tyrosins in Homogentisinsäure[2]) allgemeine Anerkennung gefunden zu haben scheint.[3])

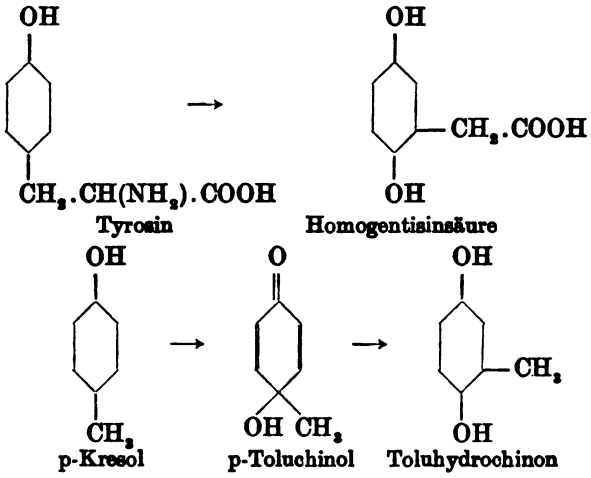
---

[1]) Die Resultate dieser Arbeit sind in einem Vortrage, den der eine von uns (E. Friedmann) in der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin am 2. Juli 1909 gehalten hat, mitgeteilt worden.

[2]) Den ersten Hinweis auf die chemische Reaktion, die dem Übergang von Tyrosin in Homogentisinsäure entspricht, verdanken wir Erich Meyer, Arch. f. klin. Med. 70, 447, 1901. Die Arbeit von Erich Meyer habe ich zu meinem Bedauern übersehen. Siehe E. Friedmann, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 11, 304, 1908.

E. Friedmann.

[3]) Vgl. Konrad Fromherz, Über Alkaptonurie (Verlag von Karl J. Trübner, 1908), S. 40. — L. Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 284, 1908. — Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 246, 1909.



Diese Auffassung wird jedoch dem Mechanismus des Übergangs von Tyrosin in Homogentisinsäure nicht erschöpfend gerecht, da bei den Chinolen nach den vorliegenden Untersuchungen die Umlagerung in Hydrochinonderivate unabhängig von dem Bau der Seitenkette eintritt, während im Tierkörper die Bildung von Homogentisinsäure in bestimmter Abhängigkeit von dem chemischen Bau der Seitenkette erfolgt. So bleibt es unverständlich, daß zwar Phenylalanin und die ihm entsprechende α-Oxy- und α-Ketonsäure in Homogentisinsäure übergehen, nicht aber Phenylessigsäure[1]); ebensowenig liefert p-Oxyphenylessigsäure[2]) Homogentisinsäure. Der Entstehung von Chinolderivaten im Tierkörper scheint daher eine Reaktionsfolge voranzugehen, die erst die Bildung von Chinolen ermöglicht.

Während diese Reaktionsfolge, die aufs engste mit dem Abbau der Gruppe

$$R.CH(NH_2).COOH \quad \text{zu} \quad R.COOH$$

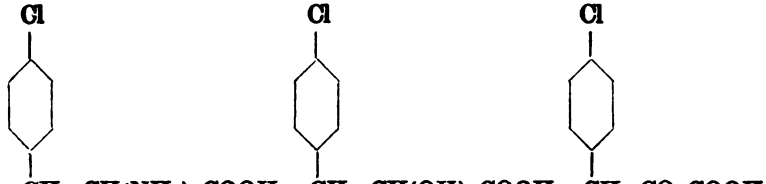
verknüpft ist, vorläufig noch undurchsichtig erscheint, erlaubt die Hypothese des intermediären Auftretens von Chinolderivaten bei der Bildung von Homogentisinsäure aus Tyrosin von einer anderen Seite eine gewisse experimentelle Prüfung. Wie aus den obigen Formeln ersichtlich ist, ist eine wesentliche Voraussetzung für die Umwandlung von p-Kresolderivaten in Hydro-

[1]) Heinrich Embden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 317, 1894. — Otto Neubauer und W. Falta, ebenda 42, 83, 1904.

[2]) L. Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 280, 1908.

chinonabkömmlinge das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe in p-Stellung zur Seitenkette. Es schien uns daher von Interesse, das Verhalten von solchen p-substituierten Benzolderivaten im Tierkörper zu prüfen, die sich bei unbesetzter p-Stellung als Bildner von Homogentisinsäure erwiesen hatten.

Zu diesem Zwecke stellten wir p-Chlorphenylalanin und die ihm entsprechende α-Oxy- und α-Ketonsäure dar:



p-Chlorphenylalanin | p-Chlorphenylmilchsäure | p-Chlorphenylbrenztraubensäure

Bei Verfütterung dieser Substanzen an Hunde beobachteten wir, daß p-Chlorphenylalanin und die ihm entsprechende Ketonsäure in p-Chlorphenylessigsäure übergingen, nicht aber die dem p-Chlorphenylalanin entsprechende α-Oxysäure, die p-Chlorphenylmilchsäure.

Die p-Chlorphenylessigsäure wurde, mit Glykokoll gepaart, als p-Chlorphenacetursäure:

$$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH$$

ausgeschieden, zu deren Identifizierung wir die Synthese der p-Chlorphenacetursäure ausführten.

Die nachstehende Tabelle gibt die gewonnenen Resultate wieder.

Eingeführte Substanz	Ausgeschieden als p-Chlorphenacetursäure
$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CH(NH_2).COOH$	+
$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CH(OH).COOH$	−
$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CO.COOH$	+

Dieses Resultat ist nach verschiedener Richtung von Interesse.

Zunächst zeigt es, der Chinolhypothese entsprechend, daß bei Substitution durch Halogen in p-Stellung zur Seitenkette der Abbau des Benzolkernes aufgehoben ist.

Auch in den Abbau der Seitenkette

$$R.CH_2.CH(NH_2).COOH$$

geben die mitgeteilten Beobachtungen einen interessanten Einblick.

Durch die Versuche von Blum[1]), der den Übergang des o- und m-Tyrosins in o- und m-Oxyphenylessigsäure im normalen Organismus feststellte, ist zuerst einwandfrei im direkten Versuch der Abbau der Gruppe $R.CH(NH_2).COOH$ zu der um ein Kohlenstoffatom ärmeren Fettsäure $R.COOH$ festgestellt worden. Ebenso wie das o- und m-Tyrosin verhält sich bei der Verfütterung das p-Chlorphenylalanin. Der Übergang des p-Chlorphenylalanins in p-Chlorphenylessigsäure bringt daher einen neuen direkten Beweis für den Abbau der Aminosäuren zu den um ein Kohlenstoffatom ärmeren Fettsäuren im Tierkörper.

Die Feststellung, daß die α-Oxysäure, die p-Chlorphenylmilchsäure nicht in p-Chlorphenylessigsäure übergeht, läßt wohl keine andere Deutung zu, als daß im vorliegenden Falle die α-Oxysäure nicht als Zwischenprodukt des Abbaues des p-Chlorphenylalanins zu p-Chlorphenylessigsäure in Betracht kommen kann. Wohl aber kann die Ketonsäure, die p-Chlorphenylbrenztraubensäure als intermediäres Produkt bei der Oxydation des p-Chlorphenylalanins auftreten, da sie ebenso wie das p-Chlorphenylalanin zu p-Chlorphenylessigsäure umgewandelt wird.

Dieses Resultat steht im besten Einklang zu den Erfahrungen, die Neubauer[2]) bei der Verfütterung von aromatischen p-Oxysäuren an einen Alkaptonuriker gewonnen hat. Auch hier erwiesen sich nur das Tyrosin und die p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Bildner von Homogentisinsäure, während nach Verfütterung von p-Oxyphenylmilchsäure keine Vermehrung der ausgeschiedenen Homogentisinsäure eintrat.

Chemischer Teil.

1. Darstellung des p-Chlorphenylalanins.

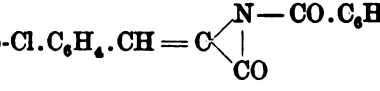
$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CH(NH_2).COOH.$

Zur Darstellung des p-Chlorphenylalanins gingen wir den von Erlenmeyer[3]) bei der Synthese des Phenylalanins eingeschlagenen Weg. Wir kondensierten p-Chlorbenzaldehyd mit Hippursäure zum Lactimid der p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure,

[1]) L. Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 273, 1908.
[2]) Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 229, 1909.
[3]) E. Erlenmeyer jun., Annal. d. Chem. u. Pharm. 275, 18.

spalteten dieses mit Natronlauge zur freien Säure auf und reduzierten die p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure mit Natriumamalgam zum Benzoyl-p-Chlorphenylalanin. Die Benzoylgruppe entfernten wir nach der Methode von Emil Fischer und Mouneyrat[1]) durch Kochen mit verdünnter Salzsäure. Die Reaktionsflüssigkeit lieferte beim Eindampfen nach Entfernung der Benzoesäure p-Chlorphenylalaninchlorhydrat, aus dem die freie Aminosäure durch Umsetzung des Chlorhydrates mit Natriumacetat gewonnen wurde.

Lactimid der p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure.



50 g p-Chlorbenzaldehyd, 64 g Hippursäure, 73 g Essigsäureanhydrid und 30 g wasserfreies Natriumacetat werden miteinander vermischt. Die Reaktionsmasse wird 4 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Dabei ballt sie sich anfangs zu einem festen, weißen Kuchen zusammen, der bei weiterem Erhitzen gelb wird. Lösung tritt während der Reaktion nicht ein. Nach beendeter Einwirkung wird das Gemenge mit Wasser versetzt. Die ausgeschiedenen Krystalle werden abgesaugt, zuerst mit Wasser und darauf mit Alkohol von 93% ausgewaschen. Es werden 79,5 g Lactimid erhalten, die sofort den richtigen Schmelzpunkt von 195° (unkorr.) haben.

Zur Analyse wird das Produkt zuerst aus siedendem Xylol umkrystallisiert, darauf aus etwa der 10fachen Menge eines Gemisches gleicher Teile Xylol und Alkohol. Die Krystalle werden von dem anhaftenden Xylol durch Waschen mit Alkohol befreit und bei 100° getrocknet.

0,1538 g Substanz: 0,3877 g CO_2, 0,0559 g H_2O.

0,2214 g Substanz: 10,29 ccm N (20,7°; 744,9 mm).

$C_{16}H_{10}O_2NCl$.	Ber.:	C 67,70	H 3,55	N 4,95
	Gef.:	C 68,48	H 4,07	N 5,21

Die Substanz krystallisiert in hellgelben Nadeln vom Schmelzpunkt 195° (unkorr.). Sie ist unlöslich in Wasser, Äther und Petroläther. In Alkohol und Aceton ist sie auch

[1]) Emil Fischer und A. Mouneyrat, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 2383, 1900.

in der Wärme schwer löslich. In Benzol ist sie in der Kälte unlöslich, jedoch in der Wärme löslich. In Xylol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff ist sie in der Kälte schwer, in der Wärme leicht löslich.

p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure.

$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH = CH(NH.CO.C_6H_5).COOH.$

20 g Lactimid werden in eine Lösung von 6 g Kaliumhydrat in 120 ccm Wasser eingetragen. Beim Erhitzen tritt nach kurzer Zeit Lösung ein. Die Flüssigkeit wird filtriert, das Filtrat mit 240 ccm Wasser verdünnt und siedend heiß mit etwas mehr als der berechneten Menge verdünnter Schwefelsäure versetzt. Dabei scheidet sich die Substanz krystallinisch ab. Säuert man die Lösung in der Kälte mit Schwefelsäure an, so ballt sich die ausgefällte Substanz zu dicken Klumpen zusammen. Die Ausbeute ist annähernd die theoretische.

Zur Reinigung werden 2,3 g Substanz in 30 ccm Alkohol von 93% gelöst. Die Lösung wird filtriert und in der Wärme mit 30 ccm Wasser versetzt. Beim Erkalten krystallisiert die Säure in prächtigen Drusen von Nadeln aus, die noch einmal aus 30 ccm 50%igem Alkohol umkrystallisiert werden.

Die Analyse der bei 110° getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0,1270 g Substanz: 0,2975 g CO_2, 0,0471 g H_2O.
0,2148 g Substanz: 8,99 ccm N (23,1°; 758,9 mm).

$C_{16}H_{12}NO_3Cl$.	Ber.: C 63,45	H 4,23	N 4,64
	Gef.: C 63,89	H 4,15	N 4,74

Die Säure krystallisiert in Drusen von Nadeln, die bei 216° (unkorr.) unter Gasentwicklung zu einer gelben Flüssigkeit schmelzen. Sie ist in Wasser, Äther, Petroläther, Chloroform und Benzol in der Kälte wie in der Wärme schwer löslich. In Alkohol ist sie auch in der Kälte leicht löslich. Aceton löst sie spielend.

p-Chlor-benzoylamino-hydrozimtsäure.

$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CH(NH.CO.C_6H_5).COOH.$

20 g p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure werden in 38 ccm 10%iger Natronlauge gelöst. Die Lösung wird mit 60 ccm Wasser verdünnt und im Verlauf von 3 Stunden unter häufigem

Schütteln mit 160 g Natriumamalgam von 2% versetzt. Darauf wird die Flüssigkeit mit 100 ccm 33%iger Natronlauge und 150 ccm Wasser vermischt, zur Zerstörung noch vorhandener ungesättigter Säure 1 Stunde zum Sieden erhitzt und in der Wärme mit überschüssiger verdünnter Schwefelsäure versetzt. Dabei fällt die gesättigte Säure als rasch erstarrendes Öl aus. Ihre Menge beträgt 17 g.

Zur Reinigung wird die Substanz aus der 15fachen Menge 50%igen Alkohols umgelöst. Beim langsamen Erkalten scheidet sie sich in prächtigen, glitzernden Blättchen, die bereits den richtigen Schmelzpunkt besitzen, aus. Für die Analyse wurde sie noch einmal in derselben Weise umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1314 g Substanz: 0,3101 g CO_2, 0,0587 g H_2O.
0,2016 g Substanz: 8,55 ccm N (16,5°; 761,0 mm).

$C_{16}H_{15}NO_2Cl$.	Ber.:	C 63,03	H 4,85	N 4,61
	Gef.:	C 64,36	H 5,00	N 4,96

Die Säure krystallisiert in glitzernden Blättchen vom Schmelzpunkt 171 bis 172° (unkorr.). Sie ist in Wasser, Äther, Petroläther, Chloroform und Benzol auch in der Wärme schwer löslich. In Alkohol und Aceton ist sie auch in der Kälte leicht löslich. In Essigäther ist sie in der Kälte schwer, in der Wärme leicht löslich.

p-Chlorphenylalanin-chlorhydrat.

$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CH(NH_2).COOH,\ HCl$.

15 g p-Chlor-benzoylamino-hydrozimtsäure werden mit 2 l 10%iger Salzsäure 24 Stunden gekocht. Die Abspaltung der Benzoylgruppe geht nur langsam von statten. Nach beendeter Einwirkung wird die Flüssigkeit von wenig Ungelöstem filtriert und das Filtrat eingedampft. Der feste Rückstand wird in Wasser aufgenommen und die wässerige Lösung zur Entfernung der Benzoesäure mit Äther ausgeschüttelt. Beim Eindampfen der wässerigen Flüssigkeit hinterbleiben 10,7 g p-Chlorphenylalaninchlorhydrat. Es wurde aus salzsäurehaltigem Wasser umkrystallisiert und scheidet sich hierbei in kreidigen Massen, die aus dichten Drusen nadelförmiger Krystalle bestehen, aus.

Zur Analyse wurde das p-Chlorphenylalaninchlorhydrat bei 100° getrocknet.

0,1838 g Substanz: 9,09 ccm N (20,7°; 763,9 mm).

$C_9H_{10}O_2NCl$, HCl. Ber.: N 5,95
Gef.: N 5,69

p-Chlorphenylalanin.

p-Cl.C_6H_4.CH_2.CH(NH_2).COOH.

3 g p-Chlorphenylalanin-chlorhydrat werden in 9 ccm Wasser in der Wärme gelöst und die Flüssigkeit mit 10 ccm kalt gesättigter Natriumacetatlösung versetzt. Beim Erkalten und Stehen scheidet sich die freie Aminosäure krystallinisch ab. Die Krystalle werden abgesaugt und in möglichst wenig heißem Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Tierkohle entfärbt und zur Krystallisation eingedampft. Das nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Wasser gewonnene Produkt wurde zur Analyse bei 100° getrocknet.

0,1568 g Substanz: 0,3147 g CO_2, 0,0778 g H_2O.
0,2020 g Substanz: 12,37 ccm N (17,9°; 750,9 mm).

$C_9H_{10}O_2NCl$. Ber.: C 54,12 H 5,05 N 7,04
Gef.: C 54,72 H 5,55 N 7,00

Die Substanz krystallisiert in vierseitigen, farblosen Blättchen, die bei 243 bis 244° unter Zersetzung schmelzen.

2. Darstellung der p-Chlorphenylmilchsäure.

p-Cl.C_6H_4.CH_2.CH(OH).COOH.

p-Chlorphenylmilchsäure wurde durch Einwirkung von salpetriger Säure auf p-Chlorphenylalaninchlorhydrat gewonnen.

10 g p-Chlorphenylalanin-chlorhydrat werden in 60 ccm Wasser gelöst und mit 7,5 ccm konz. Salzsäure (spez. Gew. 1,19) versetzt. Der klaren, auf +2 bis 0° abgekühlten Lösung werden 3,2 g in 30 ccm Wasser gelöstes Natriumnitrit tropfenweise unter guter Kühlung zugesetzt.

Die so erhaltene Flüssigkeit wird zunächst 2 Tage im Eisschrank, dann 1 Tag bei Zimmertemperatur stehen gelassen, bis die anfangs ziemlich reichliche Stickstoffentwicklung aufgehört hat. Dabei scheiden sich weiße, nadelförmige Krystalle ab, die abgesaugt und mit wenig Wasser gewaschen werden. Ihre Menge beträgt 0,7 g. Die Mutterlauge wird durch Einleiten von Luft von der salpetrigen Säure und den gelösten Stickoxyden befreit und weitere 10 Tage im Eisschrank stehen

gelassen. Dabei krystallisieren von neuem nadelförmige Krystalle in geringer Menge aus, die mit der ersten Krystallisation vereint werden. Die noch in der Mutterlauge verbleibende Chlorphenylmilchsäure kann durch Ausäthern gewonnen werden und bleibt nach Abdestillieren des Äthers als langsam erstarrendes Öl zurück. Zur Analyse wird sie aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1334 g Substanz: 0,2605 g CO_2, 0,0584 g H_2O.

$C_9H_9O_3Cl$. Ber.: C 53,87 H 4,52

Gef.: C 53,26 H 4,89

p-Chlorphenylmilchsäure krystallisiert in langen, feinen, weichen, verfilzten Nadeln, die Seidenglanz besitzen und bei 85 bis 87° (unkorr.) schmelzen.

Sie ist spielend löslich in absolutem Alkohol, in Äther und Essigäther, in der Kälte wenig löslich in Wasser, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Chloroform, löst sich aber in diesen Lösungsmitteln leicht in der Wärme. In Petroläther ist sie auch in der Wärme schwer löslich. Wird sie in heißem Chloroform gelöst, so scheidet sie sich nach Zusatz von Petroläther zu dieser Lösung gallertig aus. In der Gallerte sind feine Nadeln eingebettet.

3. Darstellung der p-Chlorphenylbrenztraubensäure.

$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CO.COOH$.

p-Chlorphenylbrenztraubensäure wurde analog der Darstellung der Phenylbrenztraubensäure[1]) aus p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure durch Einwirkung von 2 Mol. Ätznatron in der Wärme gewonnen.

14 g p-Chlor-benzoylamino-zimtsäure werden mit einer Lösung von 6 g Ätznatron in 50 ccm Wasser erhitzt, bis kein Ammoniak mehr entweicht. Hierzu sind mindestens 3 Stunden erforderlich. Die Flüssigkeit wird nach dem Erkalten mit 300 ccm Wasser verdünnt und mit Schwefelsäure angesäuert. Der Niederschlag wird nach kurzem Stehen abgesaugt und das Filtrat in den Eisschrank gestellt. Nach 3tägigem Stehen ist die Krystallisation beendigt. Die Krystalle werden abgesaugt

[1]) J. Plöchl, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 16, 2818, 1883.

und in etwa der 7fachen Menge 50%igen Alkohols gelöst. Die Lösung wird zunächst bei Zimmertemperatur langsam erkalten gelassen und, nachdem sie Zimmertemperatur angenommen hat, in den Eisschrank gestellt. Bei mehrtägigem Stehen im Eisschrank scheidet sich die Ketonsäure in Gestalt feiner, weißer, seidenglänzender Nadeln ab. Sie wird abgesaugt, mit 50%igem Alkohol ausgewaschen und im Vakuum über Chlorcalcium getrocknet. Ihre Menge beträgt 7 g. Zur Analyse wird sie noch einmal aus 50%igem Alkohol umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1228 g Substanz: 0,2441 g CO_2, 0,0469 g H_2O.

$C_9H_7O_3Cl$. Ber.: C 54,41 H 3,55

Gef.: C 54,21 H 4,27

p-Chlorphenylbrenztraubensäure krystallisiert in farblosen Nadeln und unregelmäßigen Blättchen, die bei 191° unter Gasentwicklung und Gelbfärbung schmelzen. Die Säure ist spielend löslich in Aceton, leicht löslich in absolutem Alkohol und Äther und schwer löslich, auch in der Wärme, in Wasser, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Petroläther und Benzol. In Alkohol gelöst, gibt sie, mit Eisenchlorid versetzt, intensive Grünfärbung.

4. Synthese der p-Chlorphenacetursäure.

p-Cl.C_6H_4.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH.

Die Darstellung der p-Chlorphenacetursäure wurde durch Umsetzung von p-Chlorphenylessigsäurechlorid mit Glykokoll bei Gegenwart von Natronlauge ausgeführt.

Zur Gewinnung von p-Chlorphenylessigsäurechlorid gingen wir vom Benzoylcyanid aus, führten es nach der Vorschrift von Gabriel[1]) in p-Nitrobenzoylcyanid über und verseiften dieses mit der 10fachen Menge konz. Salzsäure.[2]) Die p-Nitrophenylessigsäure wurde mit der berechneten Menge Zinnchlorür und Salzsäure zur p-Aminophenylessigsäure reduziert.[3])

---

[1]) S. Gabriel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 14, 2342, 1881.

[2]) S. Gabriel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 15, 834, Fußnote 2, 1882.

[3]) Bronislas Radziszewski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 2, 209, 1869.

Die Überführung der p-Aminophenylessigsäure in p-Chlorphenylessigsäure ist bereits von Petrenko-Kritschenko[1]) ausgeführt worden, indem er die bei der Reduktion der p-Nitrophenylessigsäure mit Zinnchlorür und Salzsäure erhaltene Lösung diazotierte und das diazotierte Produkt zu einer kochenden 10%igen Kupferchlorürlösung tropfenweise hinzugab. Dieses Verfahren lieferte uns jedoch nur schlechte Ausbeute. Wir zogen es deshalb vor, das Zinn vor der Diazotierung mit Schwefelwasserstoff aus der stark verdünnten Reduktionsflüssigkeit auszufällen und durch Eindampfen der zinnfreien Lösung das p-Aminophenylessigsäure-chlorhydrat darzustellen.

Die Umwandlung der p-Aminophenylessigsäure in p-Chlorphenylessigsäure führten wir ebenfalls nach dem Verfahren von Sandmeyer aus, wobei wir die unten beschriebenen Versuchsbedingungen einhielten.

Das durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf p-Chlorphenylessigsäure dargestellte p-Chlorphenylessigsäurechlorid ist von Petrenko-Kritschenko als schwarze Masse erhalten worden. Wir haben es mühelos analysenrein durch einmalige Destillation im Vakuum erhalten können.

Umwandlung der p-Aminophenylessigsäure in p-Chlorphenylessigsäure.

38 g rohes p-Aminophenylessigsäure-chlorhydrat (durch Eindampfen der zinnfreien Reduktionsflüssigkeit erhalten) werden in 250 ccm Wasser, dem 35 ccm konz. Salzsäure hinzugefügt werden, unter Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst. Die abgekühlte Lösung wird bei $+1^{\circ}$ mit einer gut gekühlten Lösung von 14,7 g Natriumnitrit in 100 ccm Wasser tropfenweise versetzt. Dabei scheiden sich geringe Menge dunkler, öliger Substanzen aus, die durch Filtration entfernt werden.

Die diazotierte Flüssigkeit wird in eine siedend heiße Lösung von 30 g Kupferchlorür in 270 ccm 17%iger Salzsäure, die sich in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben befindet, langsam eingetropft, und nach beendeter Stickstoffentwicklung heiß filtriert. Beim Erkalten scheidet sich die p-Chlorphenylessigsäure in weißen, blättrigen Krystallen aus, die

[1]) P. Petrenko-Kritschenko, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 2240, 1892.

bereits den richtigen Schmelzpunkt 105 bis 106° (unkorr.)[1]) haben. Zu ihrer Reinigung werden sie in 200 ccm alkoholfreien Äthers aufgenommen. Die ätherische Lösung wird mit Natriumsulfat sorgfältig getrocknet und hinterläßt nach Abdestillieren des Äthers 25,6 g p-Chlorphenylessigsäure als eine gelblichweiße krystallinische Masse.

p-Chlorphenylessigsäurechlorid.

$$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CO.Cl.$$

25,6 g sorgfältig getrocknete p-Chlorphenylessigsäure werden in 90 ccm Chloroform gelöst. In die Lösung werden 30 g gepulvertes Phosphorpentachlorid in kleinen Portionen eingetragen. Das Phosphorpentachlorid geht rasch in Lösung. Hierbei findet geringe Erwärmung statt.

Die so erhaltene Lösung wird unter stark vermindertem Druck bei 45° bis 100° destilliert. Als Rückstand bleibt eine braune, ölige Flüssigkeit, die bei der Destillation im Vakuum zum größten Teil bei 120° und 14 mm Druck als eine wasserhelle, nur ganz schwach gelbliche, ölige Flüssigkeit übergeht. Sie riecht stechend und raucht an der Luft. Ihre Menge beträgt 14,9 g.

Die nach Carius ausgeführte Chlorbestimmung ergab den für das Chlorid der p-Chlorphenylessigsäure verlangten Wert.

0,1364 g Substanz: 0,2062 g AgCl.

$C_8H_6OCl_2$. Ber.: Cl 37,53

Gef.: Cl 37,38

p-Chlorphenacetursäure.

$$p\text{-}Cl.C_6H_4.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH.$$

6,5 g p-Chlorphenylessigsäurechlorid werden unter kräftigem Schütteln in eine Lösung von 2,5 g Glykokoll in 33 ccm Normalnatronlauge (1 Mol.) in kleinen Portionen eingetragen. Nach Eintritt schwach saurer Reaktion wird ein 2. Molekül Normalnatronlauge hinzugegeben und wieder Säurechlorid bis zum Eintreten schwach saurer Reaktion hinzugefügt. Nach Zusatz eines 3. Moleküls von Normalnatronlauge wird der Rest des Chlorids in der gleichen Weise zur Einwirkung gebracht.

---

[1]) C. Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 27, Fußnote, 1882.

Nachdem der Geruch des p-Chlorphenylessigsäurechlorids vollständig verschwunden ist, wird die Reaktionsflüssigkeit mit 120 ccm Normalschwefelsäure versetzt. Dabei fällt eine weiße, krystallinische Masse aus, die abgesaugt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wird. Ihre Menge beträgt 7,2 g.

Zur Reinigung wird sie in 175 ccm siedendem Wasser gelöst, die Lösung wird heiß filtriert, und das Filter mit 25 ccm heißen Wassers ausgewaschen. Aus dem Filtrat scheiden sich beim Erkalten federähnliche, 3seitige, zu Drusen vereinigte Blättchen aus, die nach 6stündigem Stehen im Eisschrank abgesaugt und mit wenig Wasser ausgewaschen werden. Ihre Menge beträgt 5,7 g.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° getrocknet.

0,1482 g Substanz: 0,2868 g CO_2, 0,0651 g H_2O.

0,2001 g Substanz: 10,53 ccm N (20°, 754 mm).

$C_{10}H_{10}O_2NCl$.	Ber.:	C 52,72	H 4,42	N 6,17
	Gef.:	C 52,78	H 4,91	N 5,92

p-Chlorphenacetursäure krystallisiert in 3seitigen, zu Drusen vereinigten Blättchen, die bei 165° (unkorr.) schmelzen. Die Substanz ist in Wasser, Äther, Petroläther und Benzol auch in der Wärme schwer löslich. In Aceton und Essigäther löst sie sich in der Kälte schwer. In warmem Aceton ist sie spielend löslich, in warmen Essigäther löst sie sich zwar langsam, aber ziemlich reichlich. In Alkohol ist sie schon in der Kälte ziemlich leicht löslich, spielend löslich in der Wärme.

Fütterungsversuche.

1. p-Chlorphenylalanin.

Einem Hunde von 7 kg, der mit Fleisch ernährt wird, werden täglich 2 g p-Chlorphenylalanin-chlorhydrat, in Fleischstückchen eingewickelt, verfüttert. Der Hund erhielt im ganzen 10 g p-Chlorphenylalanin-chlorhydrat.

Der Harn der Versuchstage und des 1. Nachtages wird zum dünnen Sirup eingedampft. Der Sirup wird mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft, der nach Abdampfen des Alkohols verbleibende sirupöse Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, die Lösung mit 100 ccm Phosphorsäure von 25% angesäuert und im Extraktionsapparat 4mal 12 Stunden extrahiert. Dabei scheiden sich die in Äther schwer löslichen Anteile des Ex-

traktes als brauner Sirup am Boden und als gelblich weiße Krystallmasse an den Wänden des Extraktionskolbens ab. Nach Abdestillieren des Äthers werden die zurückbleibenden Krystalle auf Ton abgepreßt. Ihre Menge beträgt 2,4 g.

Zur Reinigung werden die Krystalle in 50 ccm heißen Wassers gelöst. Die Lösung wird mit Tierkohle entfärbt, heiß filtriert und das Filter mit 30 ccm heißen Wassers ausgewaschen. Es scheiden sich sofort glitzernde, blättrige Krystalle ab, die nach 3tägigem Stehen im Eisschrank abgesaugt und getrocknet werden. Ihre Menge beträgt 2,06 g. Der Schmelzpunkt der Substanz liegt bei 165°, und bleibt bei wiederholtem Umkrystallisieren aus heißem Wasser konstant.

Die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen.

0,1797 g Substanz: 0,3472 g CO_2, 0,0805 g H_2O.

0,2054 g Substanz: 10,82 ccm N (19,3°, 753,2 mm).

$C_{10}H_{10}O_3NCl$. Ber.: C 52,72 H 4,42 N 6,17

Gef.: C 52,69 H 5,01 N 5,97

Nach der Analyse ist die isolierte Substanz p-Chlorphenacetursäure. Schmelzpunkt, Krystallform und Löslichkeitsverhältnisse sind die gleichen wie die der synthetisch dargestellten p-Chlorphenacetursäure. Auch die Mischprobe der aus dem Harn gewonnenen Substanz mit der synthetisch erhaltenen p-Chlorphenacetursäure ergibt die Identität der beiden Körper.

Von der eingeführten Substanz gingen 21,4% in p-Chlorphenacetursäure über.

2. p-Chlorphenylmilchsäure.

Einem Hund von 9,2 kg wurden an 3 aufeinander folgenden Tagen 2mal je 2 g und 1mal 0,54 g p-Chlorphenylmilchsäure als Natriumsalz, in Fleischstückchen eingehüllt, verfüttert. Der Hund wurde mit Pferdefleisch ernährt.

Die Harne der Versuchstage und des 1. Nachtages werden vereinigt und auf dem Wasserbad zum dünnen Sirup eingedampft. Dabei entwickelt sich ein eigentümlicher knoblauchartiger Geruch. Der Sirup wird mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft. Der nach Abdampfen des Alkohols verbleibende sirupöse Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen, die

Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat 5mal 12 Stunden extrahiert.

Der ätherische Auszug setzt auch beim Stehen im Eisschrank keine Krystalle ab. Der nach Abdestillieren erhaltene Sirup wird in Wasser aufgenommen, mit Tierkohle entfärbt und zur Krystallisation eingedampft. Auch nach längerem Stehen im Vakuum tritt keine Krystallisation ein. Auffallend war der knoblauchartige Geruch, der dem Ätherextrakt anhaftete.

8. p-Chlorphenylbrenztraubensäure.

An einen Hund von 9,2 kg werden an 3 aufeinander folgenden Tagen 1,95, 2,2 und 2,25 g des fein gepulverten Natriumsalzes der p-Chlorphenylbrenztraubensäure, in Fleischstücken eingehüllt, verfüttert. Der Hund wurde mit Pferdefleisch ernährt.

Die Harnportionen der 3 Fütterungstage und des 1. Nachtages werden vereinigt und auf dem Wasserbade zum dünnen Sirup eingedampft. Der Sirup wird mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft. Der nach Abdampfen des Alkohols verbleibende sirupöse Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen, die Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat 4mal 12 Stunden extrahiert. Beim Anrühren des Sirups mit Wasser tritt ein sehr intensiver knoblauchartiger Geruch auf.

Die in Äther schwer löslichen Bestandteile scheiden sich teils als dicker brauner Sirup am Boden, teils als grauweiße krystallinische Masse an den Wänden des Extraktionskolbens ab.

Die ätherische Lösung wird von den in Äther unlöslichen Anteilen abgegossen und der zurückbleibende Sirup von den Krystallen durch Ausstreichen auf Tonplatten getrennt Das Gewicht der trockenen Krystalle beträgt 1,72 g. Die abgegossene ätherische Lösung liefert nach Abdestillieren des Äthers einen stark nach Knoblauch riechenden, sirupösen Rückstand, der nach mehrtägigem Stehen krystallinisch erstarrt. Die Krystalle werden auf Tonplatten abgepreßt. Sie sind identisch mit den aus dem Ätherextrakt durch Auskrystallisieren gewonnenen Krystallen. Ihre Menge beträgt 0,7 g, so daß im ganzen 2,42 g der krystallinischen Substanz gewonnen werden.

Die Krystalle werden aus wenig heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert und zeigen bereits nach einmaligem Umkrystallisieren den Schmelzpunkt der p-Chlorphenacetursäure von 165°. Auch die übrigen Eigenschaften der Substanz entsprechen vollkommen denen des aus dem Harn nach Verfütterung von p-Chlorphenylalanin gewonnenen Körpers wie der synthetisch dargestellten p-Chlorphenacetursäure. Ein Gemisch gleicher Teile aus dem Harn gewonnener Substanz und der synthetischen p-Chlorphenacetursäure zeigte den gleichen Schmelzpunkt von 165° (unkorr.) wie die an demselben Thermometer erhitzte synthetische p-Chlorphenacetursäure.

Auch die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz gab die für p-Chlorphenacetursäure verlangten Werte.

0,1218 g Substanz: 0,2363 g CO_2, 0,0591 g H_2O.

0,2215 g Substanz: 12,20 ccm N (21,0°, 760,4 mm).

$C_{10}H_{10}O_3NCl$. Ber.: C 52,72 H 4,42 N 6,17

Gef.: C 52,91 H 5,43 N 6,30

Von der eingeführten Substanz gingen 36,7 % in p-Chlorphenacetursäure über.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

X. Mitteilung.

Verhalten der α, β-Dioxysäuren im Tierkörper.

Von

E. Friedmann und C. Maase.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. Mai 1910.)

Der Abbau der α, β-ungesättigten Säuren im Tierkörper verläuft, wie der eine von uns zuerst beobachtet hat,[1]) der Umwandlung der gesättigten Säuren vollkommen analog. So liefern sowohl Crotonsäure[2]) wie Buttersäure bei der Leberdurchblutung Acetessigsäure und bei Fütterungsversuchen beim schweren Diabetiker β-Oxybuttersäure.[3]) Dimethylacrylsäure gibt im Durchströmungsversuch ebenso wie Isovaleriansäure Acetessigsäure,[4]) bei Verfütterung der Zimtsäure an Hunde erhielt Dakin[5]) ebenso wie nach Eingabe von Phenylpropionsäure im Harn der Versuchstiere Phenyl-β-oxybuttersäure; Acetophenon und Hippursäure und Phenyl-α-β-pentensäure lieferten analog dem Verhalten der Phenylvaleriansäure Cinamoylglykokoll, Phenyl-β-oxybuttersäure, Acetophenon und Hippursäure.[6])

Diese Analogie in dem Verhalten der α, β-ungesättigten Säuren zu dem der entsprechenden gesättigten Säuren hat der eine von uns[7]) in der Weise gedeutet, daß die α, β-ungesättigten

---

[1]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 371, 1908.
[2]) E. Friedmann, l. c., S. 373.
[3]) L. Blum, Münch. med. Wochenschr. 1910, 683.
[4]) E. Friedmann, l. c., S. 372.
[5]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 213, 1909.
[6]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 231, 1909.
[7]) E. Friedmann, l. c., S. 374.

Säuren im Tierkörper unter Wasseranlagerung in die entsprechenden gesättigten β-Oxysäuren übergehen.

Erfahrungen, die bei der Alkalischmelze der ungesättigten Fettsäuren gemacht worden sind und die Deutung, die diese Beobachtungen durch Wagner[1]) erlitten haben, scheinen aber noch auf eine andere Möglichkeit der Entstehung der β-Ketonsäuren auch im Tierversuch hinzuweisen.

Bei der Kalischmelze der ungesättigten Fettsäuren hat sich nämlich ergeben, daß diese unabhängig von der Lage der Doppelbindung zwischen α- und β-Kohlenstoffatom gespalten werden, so daß immer Essigsäure und eine um 2 Kohlenstoffatome ärmere, gesättigte Fettsäure entsteht. So liefert z. B. Ölsäure beim Verschmelzen mit Ätzkali in glatter Reaktion Palmitinsäure und Essigsäure[2])

$$C_{17}H_{33}.COOH + O + H_2O = C_{15}H_{31}.COOH + CH_3.COOH,$$

obgleich die Lage der Doppelbindung in der Ölsäure zwischen dem 9. und 10. Kohlenstoffatom sicher bestimmt ist:

$$CH_3.(CH_2)_7.CH = CH.(CH_2)_7.COOH,$$

und beide Crotonsäuren geben mit Alkali verschmolzen Essigsäure:[3])

$$CH_2 = CH.CH_2.COOH + O + H_2O = 2\,CH_3.COOH,$$
$$CH_3.CH = CH.COOH + O + H_2O = 2\,CH_3.COOH.$$

Ganz analog liefert Phenylisocrotonsäure im Tierkörper Phenylessigsäure:[4])

$$C_6H_5.CH = CH.CH_2.COOH \longrightarrow C_6H_5.CH_2.COOH.$$

---

[1]) Georg Wagner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 3353, 1888.

[2]) S. Marasse, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 2, 359, 1869. — F. G. Edmed, Proc. Chem. Soc. 1897—1898, 133; Chem. Centralbl. 2, 176 und 629, 1898.

[3]) Thom. Schlippe, Annal. d. Chem. u. Pharmakol. 105, 24, 1858.

[4]) Franz Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 159, 1905. In dieselbe Gruppe von Erfahrungen scheint die Beobachtung zu gehören, daß sowohl Safrol $C_6H_3\langle^{CH_2.CH=CH_2}_{O_2.CH_2}$ sowie Isosafrol $C_6H_3\langle^{CH=CH.CH_3}_{O_2.CH_2}$ in Piperonylssäure $C_6H_3\langle^{COOH}_{O_2.CH_2}$ im Tierkörper übergehen. A. Heffter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 35, 348 und 362, 1895.

Die chemischen Reaktionen bei der Kalischmelze scheinen bei den Säuren der Acrylsäurereihe nach einer von Wagner[1]) stammenden Deutung in folgender Weise vor sich zu gehen:

„Vor allem addiert die Säure, auch unter diesen Bedingungen, zwei Hydroxyle und gibt eine Dioxysäure, z. B.:

$$R.CH:CR'.COOH \text{ gibt } R.CH(OH).CR'(OH).COOH,$$

die dann einer von Reduktion begleiteten Oxydation anheimfällt, so daß β-Ketonsäuren entstehen, die unter dem Einfluß des Kalis nach folgender Gleichung zersetzt werden:

$$R.CO.CHR'.COOH + H_2O = R.COOH + CH_2R'.COOH.$$

Der von der Reduktion begleiteten Oxydation unterliegt, wie aus allen bekannten Tatsachen zu ersehen ist, die zum Carboxyl in β-Stellung befindliche Atomgruppe, wenn in derselben kein Wasserstoff durch Alkyl ersetzt ist [CH_2 oder CH(OH)], und zwar selbst dann, wenn die doppelt gebundenen Kohlenstoffatome weit von derselben entfernt sind."

Da nun bei der Oxydation mit Permanganat ungesättigte Verbindungen recht leicht in Dioxykörper übergehen,[2]) haben wir uns die Frage vorgelegt, ob der Entstehung von β-Ketonsäuren aus α, β-ungesättigten Fettsäuren im Tierkörper die Bildung von α, β-Dioxysäuren vorangeht.

Zu diesem Zweck prüften wir im Durchströmungsversuch die α, β-Dioxybuttersäure auf ihre Fähigkeit, Acetessigsäure zu bilden, und untersuchten, ob Phenylglycerinsäure im Fütterungsversuch in Acetophenon und Phenyl-β-oxypropionsäure übergeht. Aber weder erwies sich α, β-Dioxybuttersäure im Durchströmungsversuch als Bildner von Acetessigsäure, noch trat nach Verfütterung von Phenylglycerinsäure im Harn der Versuchstiere Acetophenon auf.

$CH_3.CH(OH).CH(OH).COOH$	Keine Bildung von: $CH_3.CO.CH_2.COOH$
$C_6H_5.CH(OH).CH(OH).COOH$	Keine Bildung von: $C_6H_5.CO.CH_2.COOH$

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß α, β-Dioxysäuren keine intermediären Produkte des Abbaues der α, β-ungesättigten

[1]) Georg Wagner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 3353, 1888.

[2]) Georg Wagner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 1230, 3343, 3347, 3356, 1888.

Säuren zu β-Ketonsäuren sind. Die Resultate, die Dakin kürzlich veröffentlicht hat, machen es weiterhin zweifelhaft, ob α, β-Dioxysäuren als Zwischenstufen der Oxydation der α, β-ungesättigten Säuren zu den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren in Betracht zu ziehen sind. Phenylglycerinsäure[1]) erwies sich nämlich im Tierkörper als recht widerstandsfähig und wurde zum größten Teil unverändert ausgeschieden, während Zimtsäure ebenso leicht abgebaut wurde wie Phenylpropionsäure.

Die einfachste Erklärung für den Übergang der α, β-ungesättigten Säuren in β-Ketonsäuren im Tierkörper dürfte vorläufig in der Annahme zu sehen sein, daß die α, β-ungesättigten Säuren durch Wasseranlagerung in β-Oxysäuren umgewandelt werden, die dann weiter zu β-Ketonsäuren oxydiert werden:

$$R.CH = CH.COOH \longrightarrow R.CH(OH).CH_2.COOH \longrightarrow$$
$$\longrightarrow R.CO.CH_2.COOH$$

Diese Annahme wird gestützt durch die Bildung von β-Oxybuttersäure nach Einführung von Crotonsäure im Stoffwechselversuch beim schweren Diabetiker[2]) und durch die Entstehung von Phenyl-β-Oxypropionsäure nach Verfütterung von Zimtsäure.[3])

Experimenteller Teil.

1. Durchströmungsversuche mit α, β-Dioxybuttersäure.

Die zu den Versuchen notwendige α, β-Dioxybuttersäure wurde als Bariumsalz nach den Angaben von Fittig und Kochs[4]) durch Oxydation von Crotonsäure mit Bariumpermanganat gewonnen. Wir überzeugten uns von der Reinheit des dargestellten Bariumsalzes durch eine Bariumbestimmung der bei 100° getrockneten Substanz.

0,1616 g Substanz: 0,0992 g $BaSO_4$.

$C_8H_{14}O_8Ba$. Ber.: Ba 36,59,
Gef.: Ba 36,13.

Unmittelbar vor der Durchblutung wurde das Bariumsalz in das Natriumsalz übergeführt. Zu diesem Zwecke wurden

---

[1]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 242, 1909.
[2]) L. Blum, Münch. med. Wochenschr. 1910, 683.
[3]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 213, 1909.
[4]) Fittig und Kochs, Annal. d. Chem. u. Pharm. 268, 8.

je 3,15 g dioxybuttersaures Barium in 25 ccm Wasser in der Wärme gelöst, die Lösung mit der berechneten Menge Natriumcarbonat und mit 25 ccm Wasser versetzt, vom Bariumcarbonat filtriert und das Filtrat nach Zusatz von 0,8 g Kochsalz auf 100 ccm aufgefüllt.

Zur Durchblutung wurden Hundelebern verwendet. Die Tiere hatten 24 Stunden vor der Durchblutung gehungert. Sie wurden aus der Femoralis entblutet. Die Technik der Durchblutung war die von Embden und Glaeßner[1]) angegebene. Die Enteiweißung des Blutes wurde nach Schenk ausgeführt.

Die nachstehende Tabelle gibt die nach Durchblutung der Hundeleber mit α, β-dioxybuttersaurem Natron erhaltenen Resultate.

Nummer des Versuches	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
1	2 g α, β-dioxybuttersaures Natrium, 100 ccm physiol. NaCl-Lösung, 1500 ccm Rinderblut	260,5	77	34,13
2	2 g α, β-dioxybuttersaures Natrium, 100 ccm physiol. NaCl-Lösung, 1500 ccm Rinderblut	207	75	29,72

Wie die Tabelle zeigt, findet eine Bildung von Aceton auf Kosten der α, β-Dioxybuttersäure nicht statt.

2. Fütterung von Phenylglycerinsäure.

Phenylglycerinsäure stellten wir uns nach den Angaben von Fittig und Reis[2]) durch Oxydation von Zimtsäure mit Kaliumpermanganat dar. Das so erhaltene phenylglycerinsaure Calcium gab bei der Bestimmung des Krystallwassergehaltes und des Kalkgehaltes die für phenylglycerinsaures Calcium berechneten Werte.

0,2218 g Substanz: 0,0334 g H_2O.

$C_{18}H_{18}O_8Ca + 4\,H_2O$. Ber.: H_2O 14,7,

Gef.: H_2O 15,0.

---

[1]) Gustav Embden und Karl Glaeßner, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 311, 1902.

[2]) Fittig und Reis, Annal. d. Chem. u. Pharm. 268, 27.

Zur Calciumbestimmung wurde die Substanz bei 100° getrocknet.

0,1884 g Substanz: 0,0643 g $CaSO_4$.

$C_{18}H_{18}O_8Ca$. Ber.: Ca 9,74,
Gef.: Ca 10,06.

Zur Verfütterung wurde das Calciumsalz durch Umsetzung mit der berechneten Menge Natriumcarbonat in das in Blättchen krystallisierende Natriumsalz übergeführt.

Ein Hund von 14,5 kg Gewicht, der mit Fleisch ernährt wurde, erhielt an 3 aufeinander folgenden Tagen je 3,6 g phenylglycerinsaures Natrium, das in Fleischstückchen eingehüllt gegeben wurde. Der 24stündige Harn der Versuchstage und des ersten Nachtages wurde gesammelt und auf etwa $^1/_3$ des Volumens destilliert. Das Destillat wurde nach Zusatz von 20 ccm verdünnter Schwefelsäure noch einmal destilliert und das so gewonnene Destillat zum dritten Male der Destillation unterworfen. Das letzte, etwa 100 ccm betragende Destillat ließ weder mit der Jodoformprobe noch nach Zusatz von Nitroprussidnatrium die Anwesenheit eines Ketons erkennen. Dementsprechend trat auch nach Zusatz von 0,5 g Nitrophenylhydrazin in 40 ccm 40%iger Essigsäure selbst nach mehrtägigem Stehen keine Krystallisation eines Nitrophenylhydrazons ein.[1])

[1]) Die Resultate dieser Arbeit sind in einem Vortrag, den der eine von uns (Friedmann) am 2. Juli 1909 in der Physiologischen Gesellschaft in Berlin gehalten hat, mitgeteilt worden.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XI. Mitteilung.

Verhalten der Benzoylessigsäure im Tierkörper.[1])

Von

E. Friedmann.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. Mai 1910.)

Die Vorstellungen, die Knoop[2]) über den Abbau der normalen Fettsäuren entwickelt hat, und ihre experimentelle Begründung durch Knoop und namentlich durch Dakin[3]) haben zu der Auffassung geführt, daß die normalen Fettsäuren im Tierkörper durch β-Hydroxylierung in β-Oxysäuren übergehen und diese über die β-Ketonsäuren zu den um 2 Kohlenstoffatome ärmeren Säuren abgebaut werden. Das Schema dieses Oxydationsmodus wäre also das folgende:

$$\begin{array}{l} R.CH_2.CH_2.COOH, \\ \downarrow \\ R.CH(OH).CH_2.COOH, \\ \downarrow \\ R.CO.CH_2.COOH, \\ \downarrow \\ R.COOH. \end{array}$$

Die Einwände, die ich gegen diese Vorstellung erhoben habe,[4]) gingen zum Teil von chemischen Gesichtspunkten aus

[1]) Die Resultate dieser Arbeit sind zum Teil in einem von mir am 2. Juli 1909 in der Physiologischen Gesellschaft Berlin gehaltenen Vortrage mitgeteilt worden.

[2]) Franz Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 150, 1905.

[3]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 4, 419, 1908; ebenda 5, 303, 1908; ebenda 6, 203, 221, 235, 1909.

[4]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 152, 1908.

und stützten sich auf die Tatsache, daß keine Beobachtung vorlag, daß die Wasserstoffatome am β-Kohlenstoffatom reaktionsfähig wären. Da inzwischen Dakin[1]) im Wasserstoffsuperoxyd ein Oxydationsmittel gefunden hat, durch das die normalen Fettsäuren zu β-Ketonsäuren oxydiert werden können, ist dieser Einwand hinfällig geworden.

Es ist auch ferner zuzugeben, daß die Annahme, daß bei der Wasserstoffsuperoxydation der gesättigten Säuren zu β-Ketonsäuren β-Oxysäuren als primäre Oxydationsprodukte auftreten, eine recht einleuchtende ist, wenngleich zu betonen ist, daß dieser Nachweis bisher noch nicht erbracht ist.[2])

Auch die Fütterungsversuche, die Dakin zur Prüfung der Hypothese der β-Oxydation ausgeführt hat,[3]) scheinen zugunsten dieser Hypothese zu sprechen, Während Knoop[4]) bei Verfütterung von Phenylpropionsäure nur den Nachweis der entstandenen Hippursäure führte, glückte Dakin der Nachweis der Phenyl-β-oxypropionsäure und der Benzoylessigsäure und die Isolierung des Acetophenons, des Cinamoylglycins und der Hippursäure.[5]) Dakin stellt nach diesen Resultaten den Abbau der Phenylpropionsäure in folgender Weise dar:

$$C_6H_5.CH_2.CH_2.COOH \rightarrow C_6H_5.CH(OH).CH_2.COOH$$
$$\rightarrow C_6H_5.CO.CH_2.COOH \rightarrow C_6H_5.CO.CH_3$$

$$\searrow \quad \swarrow$$

$$C_6H_5.COOH$$

$$\downarrow$$

$$C_6H_5.CO.NH.CH_2.COOH.$$

Dieses Schema bringt jedoch nur zum Ausdruck, daß der oxydative Abbau der Phenylpropionsäure zu Benzoesäure über

---

[1]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 4, 77, 1908; derselbe, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 405, 1908.

[2]) Der von Neubauer ausgeführte Versuch zum Nachweis der Bildung von β-Oxybuttersäure aus Buttersäure durch Oxydation mit Kaliumpersulfat ist in alkalischer Lösung und unter Bedingungen, die die Entstehung des leicht kondensationsfähigen Acetaldehyd nicht ausschließen, ausgeführt worden. Auch ist die Menge der isolierten Crotonsäure im Verhältnis zur angewendeten Buttersäure recht gering. — Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 214, 1909.

[3]) H. D. Dakin, l. c.

[4]) Franz Knoop, l. c. S. 144.

[5]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 217, 1909.

die Zwischenstufen der Phenyl-β-oxypropionsäure, der Benzoylessigsäure und des Acetophenons verlaufen kann, da diese Produkte sämtlich nach Eingabe von Phenylpropionsäure im Harn auftreten. Um die Annahme zu begründen, daß die Bildung dieser Substanzen auch tatsächlich den Abbau der Phenylpropionsäure zu Benzoesäure in ihren Hauptreaktionen wiedergibt, sind erst die Beziehungen dieser Substanzen zueinander und zur Hippursäure, dem Endprodukt der Reaktion, im Tierversuch festzustellen.

Über das Verhalten der Phenyl-β-oxypropionsäure im Tierkörper, die nach dem obigen Schema als erstes Oxydationsprodukt der Phenylpropionsäure anzusprechen wäre, hat bereits Knoop[1]) Untersuchungen angestellt. Er konnte im Harn der Versuchstiere Hippursäure „in relativ geringer Menge" feststellen. Die quantitativen Verhältnisse beim Abbau der Phenyl-β-oxypropionsäure im Tierkörper im Vergleich zu denen der Phenylpropionsäure hat erst später Dakin[2]) genauer untersucht. Er stellte fest, daß bei Katzen, die Phenyl-β-oxypropionsäure in Dosen von 0,6 g pro Kilogramm subcutan erhielten, die Säure zum größten Teil unangegriffen ausgeschieden wird, während nach subcutaner Injektion von Phenylpropionsäure in Dosen von 0,8 g pro Kilogramm Tier keine unveränderte Phenylpropionsäure im Harn auftritt. Auch bei Hunden war die Phenyl-β-oxypropionsäure erheblich schwerer angreifbar als die Phenylpropionsäure, da Phenylpropionsäure in Dosen von 0,4 g pro Kilogramm Tier, subcutan gegeben, vollständig oxydiert wurde, während nach subcutaner Injektion von Phenyl-β-oxypropionsäure selbst in Dosen von 0,15 bis 0,3 g pro Kilogramm Tier ein Teil unverändert ausgeschieden wurde. Durch diese Versuche scheint es mir nicht ausreichend begründet, ob die l-Phenyl-β-oxypropionsäure zu den intermediären Produkten zu zählen ist, die in einer Hauptreaktion beim Abbau der Phenylpropionsäure zu Benzoesäure entstehen, da es, ohne Hinzuziehen neuer Hypothesen, schwer verständlich ist, daß ein Zwischenkörper des physiologischen Abbaues der Phenylpropionsäure im Organismus erheblich weniger angreifbar ist als die Substanz, deren Abbau er vermitteln soll.

[1]) Franz Knoop, l. c. S. 156, Fußnote.

[2]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 213, 1909.

Nach der qualitativen Seite bietet jedoch das Verhalten der Phenyl-β-oxypropionsäure eine augenfällige Analogie zu dem Abbau der Phenylpropionsäure im Tierkörper, da Dakin[1]) auch nach Verfütterung von Phenyl-β-oxypropionsäure an Hunde Cinamoylglycin und Benzoylessigsäure nachweisen und Hippursäure aus dem Harn der Versuchstiere isolieren konnte. Die Berechtigung, die Benzoylessigsäure als Abbauprodukt der Phenyl-β-oxypropionsäure anzusprechen, dürfte demnach erwiesen sein, und es bliebe im Sinne des obigen Schemas noch übrig, die Beziehungen der Benzoylessigsäure zu dem Endprodukt der Reaktion, zur Hippursäure, festzustellen.

Benzoylessigsäure ist bereits von Knoop[2]) an Hunde (per os) verfüttert und ihr Übergang in Hippursäure beobachtet worden. Quantitative Angaben über die Mengen der gebildeten Hippursäure liegen jedoch nicht vor. Ich habe daher die Fütterungsversuche mit Benzoylessigsäure wieder aufgenommen.

Die Substanz wurde Hunden in Dosen von 0,35 g pro Kilogramm Tier subcutan gegeben. Im Harn der Versuchstiere konnte l-Phenyl-β-oxypropionsäure nachgewiesen und Acetophenon, Cinamoylglycin und Hippursäure isoliert werden. Es wurden also nach Verfütterung von Benzoylessigsäure dieselben Substanzen im Harn gefunden, die nach den Untersuchungen von Dakin auch nach Eingabe von Phenylpropionsäure im Harn auftreten, aber die Beziehungen dieser Produkte zu der eingeführten Substanz und zueinander scheinen sich in den Benzoylessigsäureversuchen in einem anderen Zusammenhange darzustellen als in den Fütterungsversuchen mit Phenylpropionsäure.

Die Ausscheidung des Acetophenons im Harn der Versuchstiere zeigt, daß ein Teil der eingeführten Benzoylessigsäure der Zerstörung im Tierkörper entzogen wird. Die Menge des isolierten Acetophenons ist nicht unerheblich. Sie beträgt in einem Versuch 12%, in einem anderen Versuch 6,2% der eingeführten Benzoylessigsäure. Berücksichtigt man, daß die Phenylpropionsäure in Dosen von 0,4 g pro Kilogramm im Tierkörper oxydiert wird, ohne daß unveränderte Substanz im Harn wieder ausgeschieden wird, so erscheint die Benzoylessigsäure

[1]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 212, 1909.

[2]) Franz Knoop, l. c. S. 159.

als schwerer angreifbar als diejenige Substanz, deren Abbau sie nach der Vorstellung der β-Oxydation vermitteln soll. Es scheint mir daher nach den bisher ermittelten Tatsachen für die Benzoylessigsäure zweifelhaft zu sein, ob die Benzoylessigsäure zu den intermediären Produkten zu zählen ist, die den Abbau der Phenylpropionsäure zu Benzoesäure vorwiegend ermöglichen.

Auch die Menge der ausgeschiedenen Hippursäure nach Fütterung von Benzoylessigsäure ist nicht erheblich groß. In dem Versuch, in dem die größte Menge Hippursäure isoliert wurde, waren nur 13,5% der eingeführten Benzoylessigsäure in Benzoesäure übergeführt worden. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß die Isolierung der Hippursäure infolge des gleichzeitig anwesenden Cinamoylglycins nur unter Verlusten möglich war. Jedenfalls soll die Möglichkeit, daß die Anwesenheit der Hippursäure wenigstens teilweise einem direkten Übergang von Benzoylessigsäure in Benzoesäure ihre Entstehung verdankt, nicht bestritten werden, da auch Acetophenon in Hippursäure übergeht[1]):

$$C_6H_5CO \cdot CH_2 \cdot COOH \rightarrow C_6H_5 \cdot COOH,$$
$$C_6H_5 \cdot CO \cdot CH_3 \rightarrow C_6H_5 \cdot COOH.$$

Von besonderem Interesse ist das Auftreten der l-Phenyl-β-oxypropionsäure und des Cinamoylglycins nach Verfütterung der Benzoylessigsäure, da die Bildung dieser Substanzen darauf hinweist, daß für den Abbau der Benzoylessigsäure zu Benzoesäure noch eine andere Möglichkeit in Betracht zu ziehen ist.

Während das Auftreten der l-Phenyl-β-oxypropionsäure nach Applikation von Phenylpropionsäure mit einiger Wahrscheinlichkeit als Ausdruck einer in β-Stellung zur Carboxylgruppe einsetzenden Oxydation gedeutet werden konnte, kann diese Deutung für die Entstehung der l-Phenyl-β-oxypropionsäure nach Verfütterung von Benzoylessigsäure nicht in Betracht gezogen werden. Hier handelt es sich augenscheinlich um die Bildung einer β-Oxysäure durch asymmetrische Reduktion der entsprechenden β-Ketonsäure:

$$C_6H_5 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot COOH \rightarrow C_6H_5 \cdot CH(OH) \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

[1]) M. v. Nencki, Journ. f. prakt. Chem. N. F. 18, 288, 1878.

Eine analoge Reduktion ist für β-Ketonsäuren noch nicht beobachtet worden. Seit längerem ist zwar bekannt, daß Ketone im Tierkörper reduziert werden können,[1]) aber erst kürzlich hat Neubauer[2]) beim Studium des Verhaltens einer α-Ketonsäure, der Phenylglyoxylsäure, ihren Übergang in l-Mandelsäure festgestellt und an diesem Beispiel die Vorstellung der asymmetrischen Reduktion experimentell begründet.

Bezüglich der Bildung des Cinamoylglycins nach Verfütterung von Benzoylessigsäure sei daran erinnert, daß Dakin diese Substanz nach Verfütterung von Phenylpropionsäure, Phenylpropionylglycin, Phenyl-β-oxypropionsäure und Phenylvaleriansäure nachweisen konnte[3]). Von diesen Substanzen ist allein Phenyl-β-oxypropionsäure als physiologisches Abbauprodukt der Benzoylessigsäure nachgewiesen worden, so daß auch im vorliegenden Fall die Auffassung, das Cinamoylglycin als Umwandlungsprodukt der Phenyl-β-oxypropionsäure anzusprechen, in guter Übereinstimmung mit dem nach Verfütterung von Phenyl-β-oxypropionsäure erhaltenen Resultat steht:

$$C_6H_5 . CH(OH) . CH_2 . COOH \rightarrow C_6H_5 . CH = CH . COOH.$$

Die einfachste Vorstellung für den chemischen Vorgang, der sich beim Übergang von Phenyl-β-oxypropionsäure in Zimtsäure abspielt, dürfte die auch von Dakin diskutierte Annahme sein, daß es sich bei dieser Reaktion um eine Wasserabspaltung aus Phenyl-β-oxypropionsäure handelt. Eine ähnliche Wasserabspaltung ist schon einmal beobachtet worden. Tappeiner verfütterte Chloralaceton an Kaninchen und beobachtete, daß aus dem Harn der Versuchstiere Trichloräthyliden-Acetophenon auskrystallisierte[4]):

$$CCl_3 . CH(OH) . CH_2 . CO . C_6H_5 \rightarrow CCl_2 . CH = CH . CO . C_6H_5.$$

Die Entstehung des Cinamoylglycins nach Verfütterung von Benzoylessigsäure hat die Bildung der Zimtsäure zur Voraussetzung. Da diese recht leicht und vollständig zu Benzoesäure

[1]) Otto Neubauer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 143 u. 151, 1901.

[2]) Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 246, 1909.

[3]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 208, 213, 215, 228, 1909.

[4]) H. Tappeiner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 33, 367, 1894.

im Tierkörper abgebaut wird, so muß auch ein Teil der ausgeschiedenen Hippursäure aus dieser intermediär gebildeten Zimtsäure stammen:

$$C_6H_5 . CH = CH . COOH \longrightarrow C_6H_5 . COOH.$$

Nach der in der vorstehenden Gleichung ausgedrückten Auffassung würde die Zimtsäure nicht bloß über den Weg der β-Oxy- und β-Ketonsäure zu Benzoesäure umgewandelt werden, sondern auch durch direkte oxydative Sprengung der doppelten Bindung. Bei der Leichtigkeit, mit der die Zimtsäure im Gegensatz zur Phenyl-β-oxypropionsäure und zur Benzoylessigsäure im Tierkörper in Benzoesäure übergeht, scheint es mir nicht berechtigt zu sein, diese Möglichkeit auszuschließen. Von physiologischen Versuchen, die zugunsten dieser Auffassung angeführt werden könnten, ist mir allerdings nur die von Heffter[1]) beobachtete Bildung von Piperonylsäure aus Isosafrol bekannt:

$$CH_2O_2 . C_6H_3 . CH = CH . CH_3 \longrightarrow CH_2O_2 . C_6H_3 . COOH.$$

Dagegen ist die Leichtigkeit, mit der im chemischen Experiment die Doppelbindung durch oxydative Eingriffe aufgespalten wird, eine allgemein bekannte Tatsache.

Die chemischen Vorgänge, die sich beim Abbau der Benzoylessigsäure zu Benzoesäure im Tierkörper abspielen, lassen sich im Sinne der obigen Darlegungen und unter Berücksichtigung der von Dakin und mir erhaltenen Resultate durch folgendes Schema ausdrücken[2]):

$$\begin{array}{ccc} C_6H_5 . CO . CH_2 . COOH & \rightleftarrows & C_6H_5 . CH(OH) . CH_2 . COOH \\ \downarrow & & \downarrow\uparrow \\ C_6H_5 . COOH & & C_6H_5 . CH = CH . COOH \\ & & \downarrow \\ & & C_6H_5 . COOH \end{array}$$

In diesem Schema ist die β-Oxysäure mit der β-Ketonsäure und mit der ungesättigten Säure in doppelter Weise verknüpft, da sie aus beiden Säuren sowohl entstehen sowie in beide Säuren übergehen kann. Ebenso zeigt die β-Ketonsäure

[1]) A. Heffter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 35, 362, 1895.

[2]) Die Diskussion der Frage, ob die Zimtsäure aus Phenylpropionsäure entstehen kann, ohne die Zwischenstufe der Phenyl-β-oxypropionsäure zu durchlaufen, möchte ich zurückstellen, bis die Versuche, die ich zur Lösung dieser Frage angestellt habe, abgeschlossen sind.

ein doppelseitiges Verhalten, indem sie durch Oxydation in Benzoesäure, durch Reduktion in Phenyl-β-oxypropionsäure umgewandelt wird, und ganz ähnlich kann die Zimtsäure durch Oxydation Benzoesäure und durch Wasseranlagerung Phenyl-β-oxypropionsäure liefern. Diese experimentell festgestellten Beziehungen scheinen mir den sichersten Anhaltspunkt für die Berechtigung der in dieser Arbeit durchgeführten Unterscheidung zwischen Haupt- und Nebenreaktionen beim Abbau der Fettsäuren darzubieten. Aufgabe weiterer Forschung bleibt es, im einzelnen Falle zu ermitteln, welche von diesen Reaktionen als Hauptreaktion und welche als Nebenreaktion anzusprechen ist.

Fütterungsversuche.

Die für die Fütterungsversuche notwendige Benzoylessigsäure wurde nach den Angaben von Baeyer[1]) und Perkin[2]) dargestellt.

1. Fütterungsversuch. Einem Hunde von 8,5 kg, der mit Fleisch ernährt wurde, wurden an zwei aufeinander folgenden Tagen je 3 g Benzoylessigsäure als Natriumsalz unter die Haut gespritzt. Die Säure war in 18,3 ccm Normalnatronlauge gelöst und die Lösung auf 30 ccm Wasser aufgefüllt.

Der Harn der Fütterungstage wurde mit dem der beiden ersten Nachtage vereinigt. Die vereinigten Harnportionen wurden destilliert und das etwa 300 ccm betragende Destillat nach Zusatz von 10 ccm verdünnter Schwefelsäure noch einmal der Destillation unterworfen. Das so gewonnene Destillat wurde mit einer klaren Lösung von 0,5 g p-Nitrophenylhydrazin in 40 ccm 40%iger Essigsäure versetzt. Beim Stehen scheiden sich 1,1 g Nitrophenylhydrazon aus. Es wurde aus verdünntem Alkohol umkrystallisert und scheidet sich hierbei in prächtigen, rotgelben Nadeln vom Schmelzpunkt 184 bis 185° (unkorr.) aus. Nach den Angaben von Hyde[3]) ist dies der Schmelzpunkt des Nitrophenylhydrazons des Acetophenons. Das zum Vergleiche hergestellte Nitrophenylhydrazon des Acetophenons zeigte denselben Schmelzpunkt von 184 bis 185° (un-

[1]) Adolf Baeyer und W. H. Perkin (jun.), B. 16, 2128, 1883.
[2]) W. H. Perkin, Journ. of the chem. Soc. 45, 174.
[3]) Elis Hyde, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 1814, 1899.

korr.). Eine Mischprobe des aus dem Harn gewonnenen Nitrophenylhydrazons und des synthetisch dargestellten ergab die Identität der beiden Substanzen.

Der nach dem Abdestillieren des Acetophenons zurückbleibende Harn wurde zum dünnen Sirup eingedampft und dieser mit 92%igem Alkohol viermal extrahiert. Der nach dem Abdampfen des Alkohols erhaltene Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen, die wässerige Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparate etwa 8 Tage mit Äther extrahiert. Der ätherische Auszug hinterließ nach Verjagen des Äthers einen öligen, von wenigen Krystallen durchsetzten Rückstand. Dieser wurde mit 50 ccm Wasser aufgenommen und die wässerige Lösung dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Die wässerige und die ätherische Lösung wurden getrennt verarbeitet.

Die wässerige Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt und zur Krystallisation eingedampft. Die Menge der erhaltenen Krystalle betrug 0,75 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser zeigten sie den Schmelzpunkt der Hippursäure von 187,5° (unkorr.) und erwiesen sich bei der Mischprobe als identisch mit dieser. Das Filtrat von der Hippursäure wurde mit Wasser auf 30 ccm aufgefüllt und im Polarisationsapparat untersucht. Im 2-dcm-Rohr betrug die Drehung —1,10°. Diese Linksdrehung wies auf die Anwesenheit von Phenyl-β-oxypropionsäure hin. Ich versuchte die Phenyl-β-oxypropionsäure durch Oxydation in schwach ammoniakalischer Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd in Acetophenon überzuführen, jedoch fiel der Versuch negativ aus.

Die ätherische Lösung hinterließ nach Abdestillieren des Äthers ein braunes, rasch krystallinisch erstarrendes Öl. Der Rückstand wurde fünfmal mit Petroläther ausgekocht. Der Petrolätherauszug ergab nach Entfernung des Petroläthers 0,1 g einer krystallinischen Substanz, die nach ihrem Schmelzpunkt von 121,5° (unkorr.) als Benzoesäure erkannt wurde und mit dieser durch die Mischprobe identifiziert werden konnte.

Der in Petroläther unlösliche Anteil des Ätherextraktes wurde in 30 ccm Wasser gelöst. Die wässerige Lösung war durch eine geringe Menge einer öligen Substanz getrübt, die durch Schütteln mit wenig Tierkohle in der Kälte entfernt

werden konnte. Die klare Flüssigkeit lieferte beim Einengen 1,5 g eines sirupösen Rückstandes, der langsam und nur zum Teil krystallinisch erstarrte. Die Krystalle wurden auf Ton abgepreßt. Ihre Menge betrug 0,6 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser wurde der Schmelzpunkt des Körpers bei 192 bis 193° gefunden. Es ist dies der für Cinamoylglycin angegebene Schmelzpunkt. Zum Vergleich synthetisch dargestelltes Cinamoylglycin zeigte denselben Schmelzpunkt, ebenso ein Gemisch gleicher Teile aus dem Harn isolierter Substanz mit synthetisch dargestelltem Cinamoylglycin. Löst man die Substanz in Salzsäure und kocht kurze Zeit, so scheidet sich beim Erkalten Zimtsäure ab, die durch Schmelzpunkt (132°, unkorr.) und Mischprobe identifiziert wurde.

2. Fütterungsversuch. Einem Hunde von 7,5 kg, der mit Fleisch ernährt wurde, wurden je 2,5 g Benzoylessigsäure als Natriumsalz an zwei aufeinander folgenden Tagen unter die Haut gespritzt. Die Säure war in 15,25 ccm Normalnatronlauge gelöst und die Lösung auf 30 ccm aufgefüllt.

Der Harn der Fütterungstage wurde mit dem des ersten Nachtages vereinigt und der Destillation unterworfen. Das etwa 300 ccm betragende Destillat wurde nach Zusatz von 10 ccm verdünnter Schwefelsäure noch einmal destilliert. Die übergegangene Flüssigkeit wurde mit 0,5 g p-Nitrophenylhydrazin in 40 ccm 40%iger Essigsäure versetzt und lieferte 0,48 g eines Hydrazons, das als Nitrophenylhydrazon des Acetophenons (Schmelzpunkt 184 bis 185°, unkorr.) identifiziert wurde.

Der nach Abdestillieren des Acetophenons zurückbleibende Harn wurde zum dünnen Sirup eingedampft und dieser durch viermaliges Auskochen mit 92%igem Alkohol erschöpft. Der alkoholische Auszug wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, die Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat 8 Tage mit Äther extrahiert. Der ätherische Auszug hinterließ nach Abdestillieren des Äthers einen öligen, von wenig Krystallen durchsetzten Rückstand, der in 50 ccm Wasser aufgenommen wurde. Die trübe, wässerige Lösung wurde durch Behandeln mit Tierkohle in der Kälte geklärt und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Die wässerige Lösung und der ätherische Auszug wurden getrennt verarbeitet.

Die wässerige Lösung wurde mit Tierkohle in der Wärme entfärbt und konzentriert. Die auf 30 ccm aufgefüllte Lösung wurde im Polarisationsapparat untersucht. Im 2-dcm-Rohr betrug die Drehung —1,15°. Diese Linksdrehung wies auf die Anwesenheit der Phenyl-β-oxypropionsäure (oder ihres Glykokollderivates) hin. Um ihr Vorhandensein sicherzustellen, wurde versucht, sie in Zimtsäure überzuführen. Zu diesem Zweck wurde die Lösung zum Sirup eingedampft, der beim Stehen zum Teil prächtig krystallisierte. Die Krystalle (0,9 g) erwiesen sich als Harnstoff. Die in den Ton eingesaugte Substanz wurde durch wiederholtes Auskochen des Tones mit heißem Wasser wiedergewonnen. Die wässerigen Auszüge wurden zum Sirup eingedampft, der auch nach mehrtägigem Stehen keine Neigung zum Krystallisieren zeigte. Er wurde mit 10 ccm Salzsäure eine kurze Zeit erhitzt. Beim Erkalten krystallisieren 0,4 g einer Substanz aus, die die Eigenschaften und den Schmelzpunkt (132°, unkorr.) der Zimtsäure haben. Auch die Mischprobe der so gewonnenen Säure mit reiner Zimtsäure ergab die Identität der beiden Substanzen.

Die ätherische Lösung lieferte nach Abdestillieren des Äthers einen krystallinisch erstarrenden Rückstand, der mit Petroläther fünfmal ausgekocht wurde. Aus dem Petrolätherauszug konnten nur ganz spärliche Krystalle von Benzoesäure gewonnen werden. Der in Petroläther unlösliche Anteil wurde in 80 ccm heißem Wasser gelöst, die Lösung nach dem Erkalten durch Zusatz von Tierkohle geklärt und auf etwa 15 ccm eingeengt. Beim Stehen über Nacht krystallisierten 0,8 g Substanz aus. Der Schmelzpunkt des Rohproduktes lag unscharf bei 165 bis 172°. Es lag augenscheinlich ein Gemenge von Hippursäure und Cinamoylglycin vor. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus wenig heißem Wasser wurde die Hauptmenge der Substanz, etwa 0,4 g, erhalten.

Der Schmelzpunkt lag scharf bei 192 bis 193°. Es ist dies der für Cinamoylglycin angegebene Schmelzpunkt. Auch die Eigenschaften der aus dem Harn gewonnenen Substanz entsprachen völlig dem synthetisch dargestellten Cinamoylglycin. Ebenso ergab die Mischprobe die Identität des aus dem Harn gewonnenen Körpers mit dem synthetischen Cinamoylglycin. Die Mutterlauge des Cinamoylglycins lieferte beim Einengen

einen krystallinischen Rückstand, aus dem durch wiederholte fraktionierte Krystallisation 0,1 g reine Hippursäure vom Schmelzpunkt 187,5° isoliert werden konnten.

Die nach Absaugen des Gemisches (0,8 g) von Cinamoylglycin und Hippursäure erhaltene Mutterlauge wurde auf 30 ccm aufgefüllt und im Polarisationsapparat untersucht. Die Drehung der Lösung betrug im 2-dcm-Rohr —2,7°. Diese Linksdrehung wies auf die Anwesenheit von Phenyl-β-oxypropionsäure hin, die durch Überführung in Acetophenon nachgewiesen wurde. Zu diesem Zweck wurde die Lösung zum Sirup eingedampft, der auch nach mehrtägigem Stehen in der Kälte keine Neigung zum Krystallisieren zeigte. Der Sirup wurde in 30 ccm Wasser aufgenommen und die Flüssigkeit nach Zusatz von 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 5 ccm 2%iger Kaliumbichromatlösung der Destillation unterworfen. Die Destillation wurde unter Hinzufügen von 5 ccm 2%iger Kaliumbichromatlösung so oft wiederholt, bis keine Öltropfen in das Destillat übergingen. Hierzu waren etwa 50 ccm 2%iger Kaliumbichromatlösung notwendig. Das Destillat roch intensiv nach Benzaldehyd. Um diesen zu beseitigen, wurde das Destillat mit ammoniakalischer Silberlösung und einigen Tropfen Natronlauge bei 35° erwärmt, mit Phosphorsäure angesäuert und filtriert. Das Filtrat lieferte bei der Destillation eine Flüssigkeit, die noch einmal mit ammoniakalischer Silberlösung behandelt wurde und nach Zusatz von Phosphorsäure destilliert wurde. Das Destillat roch intensiv nach Acetophenon. Es gab beim Behandeln mit alkalischer Jodlösung Jodoform und zeigte nach Zusatz von Nitroprussidkalium intensive Blaufärbung. Zur Isolierung des Acetophenons wurde das Destillat mit 0,5 g p-Nitrophenylhydrazin in 40 ccm 40%iger Essigsäure versetzt. Das reichlich ausfallende Hydrazon hatte nach Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol den Schmelzpunkt 184 bis 185°. Denselben Schmelzpunkt hatte ein Gemisch gleicher Teile des aus dem Harn erhaltenen Nitrophenylhydrazon mit dem synthetisch dargestellten Nitrophenylhydrazon des Acetophenons.

Über den respiratorischen Quotienten nach Ausschaltung der Abdominalorgane.

Von

Otto Porges.

(Aus der I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 23. Mai 1910.)

Eines der wichtigsten Probleme der Stoffwechselforschung ist die Frage nach den wechselseitigen Beziehungen der drei Grundnährstoffe, der Eiweißkörper, Kohlenhydrate und Fette.

Obwohl diese Frage in einzelnen Punkten bereits eine Beantwortung gefunden hat, obwohl wir wissen, daß unter besonderen Bedingungen Eiweiß und höchstwahrscheinlich auch Fett vom Organismus in Kohlenhydrat umgeformt wird, Kohlenhydrat umgekehrt in Fett übergeführt werden kann, so läßt sich über die gegenseitigen Umwandlungen dieser Stoffe im normalen Geschehen keine exakt bewiesene Behauptung aufstellen. So wurde von Nasse, Chauveau, Seegen, v. Noorden u. a. angenommen, daß die Fette vor ihrem Verbrauche in Kohlenhydrat umgewandelt werden müssen; Rubner vermutet etwas ähnliches bezüglich des Verbrauches des größten Teiles der Eiweißkörper. Zuntz und seine Schüler neigen dagegen mehr zur Ansicht, daß Eiweißkörper und Fette ebenso wie die Kohlenhydrate eine direkte Verwendung im Kraftstoffwechsel finden. Beide Auffassungen stützen sich auf gewisse Tatsachen, die noch weiter unten eine kritische Besprechung erfahren sollen.

Es ist nun unumstößlich erwiesen, daß der größte Teil des Stoffverbrauches auf Rechnung der Muskeltätigkeit zu setzen ist. Nimmt man daher an, daß nur Kohlenhydrate eine direkte Quelle der Muskelkraft sind, so müssen die anderen Energiespender — als solche sind Eiweißkörper und Fette charak-

terisiert — eine kontinuierliche Umwandlung in Kohlenhydrat erleiden, falls mit der Nahrung nicht hinlänglich Kohlenhydrat zugeführt wird. Es muß daher ein Organ die Fähigkeit besitzen, eine solche Arbeit kontinuierlich zu leisten. Als solches wurde seit jeher die Leber bezeichnet. Zahlreich sind die Gründe, die eine derartige Aufgabe der Leber wahrscheinlich machen. Schon ihre Beziehung zum Blutkreislauf, die sie als Schaltestation für das aus dem Darmtrakte kommende Blut erscheinen läßt, spricht in diesem Sinne. Die Leber ist der Ort der Harnstoffbildung aus Amidosäuren (Schröder), womit sich eine Beziehung zum Eiweißstoffwechsel verrät. Die Leber ist aber auch die Stelle, an der die Fettsäuren und Amidosäuren oxydiert werden (Embden und seine Mitarbeiter). Tritt im Organismus Kohlenhydratmangel ein, so strömt aus den Fettdepots das Fett der Leber zu (Nasse) und häuft sich daselbst an. Ist wieder neues Kohlenhydrat gebildet, so erscheint die Leber als Ablagerungsstätte und wird dadurch auch als Bildungsstätte desselben wahrscheinlich.

Ist nun die Leber tatsächlich das Organ, das in der Norm Eiweiß und Fett in Kohlenhydrat umbildet, so muß nach Ausschaltung der Leber die Eiweiß- und Fettverbrennung erheblich eingeschränkt werden. Der respiratorische Quotient, der uns darüber Aufschluß gibt, welche Substanzen im Organismus verbrannt werden, müßte nach Leberausschaltung eine Einschränkung der Eiweiß- und Fettverbrennung zugunsten der Kohlenhydratverbrennung erkennen lassen.

Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel nach Leberausschaltung haben Bohr und Henriquez[1]) sowie Scaffidi[2]) ausgeführt. Bohr und Henriquez haben im Sinne einer andersartigen Fragestellung diesbezügliche Versuche an Tieren ausgeführt, denen die Aorta sowie in einigen Fällen auch die Vena cava inferior abgebunden war. Für unsere Fragestellung sind diese Versuche nicht beweiskräftig, da die Atemproben sich nur auf einen Zeitraum von einigen Minuten erstrecken, so daß Veränderungen des respiratorischen Quotienten durch eine ungleichmäßige Kohlensäureausscheidung vorgetäuscht sein können. Zudem sind die Versuche an curaresierten, künst-

[1]) Bohr und Henriquez, Arch. de Physiol. 29, 458, 1897.
[2]) Scaffidi, diese Zeitschr. 14, 156, 1908.

lich ventilierten Tieren ausgeführt. Schließlich machen diese Forscher keine Angaben über die Fütterungsart der Tiere, die doch für den Wert des respiratorischen Quotienten von Belang ist. Immerhin werden sich Bohrs und Henriquez' Versuche zum Vergleiche mit den in vorliegender Arbeit mitgeteilten heranziehen lassen. Scaffidi untersuchte den respiratorischen Stoffwechsel von Enten, deren Portalgefäße ligiert waren. Die Leber war in Scaffidis Versuchen nicht vollständig aus der Zirkulation ausgeschaltet, immerhin war der Leberkreislauf in den ersten Tagen nach der Gefäßabbindung in solchem Maße eingeengt, so daß auch Scaffidis Versuche die Veränderungen andeuten müßten, die der respiratorische Quotient nach totaler Leberausschaltung erfährt. Es wird noch weiter unten von Scaffidis Resultaten bezüglich des respiratorischen Quotienten sowie bezüglich der Deutung, die er seinen Beobachtungen gibt, die Rede sein.

Da somit keine einwandfreien Beobachtungen über die Veränderungen des respiratorischen Quotienten nach totaler Leberausschaltung im Sinne obiger Fragestellung vorliegen, so hielt ich es für dankbar, mich dieser Aufgabe zu unterziehen.

Versuchsmethodik. Da sich die isolierte Ausschaltung der Leber als technisch undurchführbar erwies, wurde mit der Leber gleichzeitig das ganze Gebiet der Aorta abdominalis ausgeschaltet. Als Versuchstiere dienten große Kaninchen. Die Tiere erhielten nach 24 bis 48stündigem Hungern zwecks Narkose große Dosen von Urethan per os. $^1/_2$ Stunde nach der Zufuhr der Urethanlösung wurden sie aufgebunden; nachdem die Trachea herauspräpariert war, wurde die Bauchhöhle durch einen Kreuzschnitt geöffnet, die Aorta, die Vena cava inferior samt den Lebervenen unmittelbar am Durchtritt durch das Zwerchfell unterbunden, schließlich die Pfortader ligiert, die Bauchhöhle geschlossen. Nunmehr wurde die Trachea geöffnet und eine Trachealkanüle eingeführt. Die Untersuchung der Exspirationsluft erfolgte nach dem Zuntz-Geppertschen Verfahren. Stets wurde mit der Probenahme der Exspirationsluft ca. 10 Minuten von der Einführung der Trachealkanüle ab gewartet, wodurch eine Gleichmäßigkeit der Lungenventilation und damit der Kohlensäureabgabe gewährleistet erscheint. Die Probenahme selbst wurde auf mindestens 1 Stunde ausgedehnt, um eventuelle Ungleichmäßigkeiten der Kohlensäureausfuhr zu kompensieren. Es sei bemerkt, daß nur ein Teil der operierten Tiere so lange überlebte, als es für die Versuchsdauer notwendig war, so daß unter ca. 30 begonnenen Versuchen nur die wenigen hier mitgeteilten zu Ende geführt werden konnten.

Versuch 1.

15. IV. 1909. Kaninchen, Gew. 1,9 kg, hungernd seit 24 Stunden.

5 Uhr 15 Min. 1 g Urethan per os.

5 Uhr 40 Min. Abbindung der Aorta, der Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

5 Uhr 45 Min. Einführung der Trachealkanüle.

5 Uhr 55 Min. Beginn der Probenahme.

6 Uhr 15 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 0{,}86\,\%$, $N = 79{,}115\,\%$, $O = 20{,}025\,\%$.

Resp. Quotient = 0,905.

Versuch 2.

28. IV. 1909. Kaninchen, Gew. 2,5 kg, hungernd seit 24 Stunden.

12 Uhr. 2,3 g Urethan per os.

12 Uhr 30 Min. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

12 Uhr 35 Min. Einführung der Trachealkanüle.

12 Uhr 50 Min. Beginn der Probenahme.

2 Uhr 13 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}755\,\%$, $N = 79{,}05\,\%$, $O = 19{,}195\,\%$.

Resp. Quotient = 0,997.

Versuch 3.

4. V. 1909. Kaninchen, Gew. 2 kg, hungernd seit 24 Stunden.

4 Uhr 30 Min. 2,5 g Urethan per os.

5 Uhr 10 Min. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

5 Uhr 15 Min. Einführung der Trachealkanüle.

5 Uhr 30 Min. Beginn der Probenahme.

6 Uhr 50 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 2{,}22\,\%$, $N = 79{,}18\,\%$, $O = 18{,}60\,\%$.

Resp. Quotient = 0,928.

Versuch 4.

5. V. 1909. Kaninchen, Gew. 1,75 kg, hungernd seit 30 Stunden.

4 Uhr 30 Min. 2 g Urethan per os.

5 Uhr. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

5 Uhr 10 Min. Einführung der Trachealkanüle.

5 Uhr 20 Min. Beginn der Probenahme.

7 Uhr 38 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}99\,\%$, $N = 79{,}175\,\%$, $O = 18{,}895\,\%$.

Resp. Quotient = 0,985.

Versuch 5.

19. V. 1909. Kaninchen, Gew. 2,5 kg, hungernd seit 24 Stunden.

3 Uhr 15 Min. 3 g Urethan per os.

3 Uhr 45 Min. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

3 Uhr 50 Min. Einführung der Trachealkanüle.

4 Uhr 4 Min. Beginn der Probenahme.

5 Uhr 4 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}87\,\%$, $N = 79{,}205\,\%$, $O = 18{,}925\,\%$.

Resp. Quotient = 0,902.

Versuch 6.

9. VI. 1909. Kaninchen, 2,5 kg, hungernd seit 24 Stunden.

11 Uhr 30 Min. 3 g Urethan per os.

12 Uhr 8 Min. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

12 Uhr 15 Min. Einführung der Trachealkanüle.

12 Uhr 25 Min. Beginn der Probenahme.

1 Uhr 49 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 2{,}235\,\%$, $N = 79{,}23\,\%$, $O = 18{,}535\,\%$.

Resp. Quotient = 0,905.

Versuch 7.

28. X. 1909. Kaninchen, Gew. 3 kg, hungernd seit 24 Stunden.

4 Uhr. 2,5 g Urethan per os.

4 Uhr 30 Min. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

4 Uhr 40 Min. Einführung der Trachealkanüle.

5 Uhr 30 Min. Beginn der Probenahme.[1])

6 Uhr 50 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}88\,\%$, $N = 79{,}25\,\%$, $O = 18{,}87\,\%$.

Resp. Quotient = 0,878.

Versuch 8.

11. XI. 1909. Kaninchen, Gew. 2,5 kg, hungernd seit 24 Stunden.

3 Uhr. 2,5 g Urethan per os.

3 Uhr 30 Min. Abbindung der Aorta, Vena cava inferior, der Lebervenen und Pfortader.

3 Uhr 40 Min. Einführung der Trachealkanüle.

3 Uhr 52 Min. Beginn der Probenahme.

4 Uhr 52 Min. Schluß der Probenahme.

4 Uhr 59 Min. Beginn der 2. Probenahme.

6 Uhr 15 Min. Schluß der 2. Probenahme.

---

[1]) Wegen Störung in der Gasuhr mußte mit der Probenahme fast 1 Stunde gewartet werden.

Zusammensetzung der 1. Atemprobe:
$CO_2 = 1{,}915\%$, $N = 79{,}235\%$, $O = 18{,}85\%$.
Resp. Quotient = 0,888.

Zusammensetzung der 2. Atemprobe:
$CO_2 = 2{,}195\%$, $N = 79{,}255\%$, $O = 18{,}55\%$.
Resp. Quotient = 0,892.

Kontrollversuch 1.

7. V. 1909. Kaninchen, Gew. 3 kg, hungernd seit 24 Stunden.
3 Uhr 20 Min. 2,5 g Urethan per os.
3 Uhr 50 Min. Einführung der Trachealkanüle.
4 Uhr 2 Min. Beginn der Probenahme.
5 Uhr 25 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:
$CO_2 = 2{,}77\%$, $N = 79{,}825\%$, $O = 17{,}405\%$.
Resp. Quotient = 0,736.

Kontrollversuch 2.

11. V. 1909. Kaninchen, Gew. 2,5 kg, hungernd seit 24 Stunden.
8 Uhr. 2,5 g Urethan per os.
8 Uhr 30 Min. Einführung der Trachealkanüle.
8 Uhr 35 Min. Beginn der Probenahme.
9 Uhr 3 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:
$CO_2 = 2{,}70\%$, $N = 79{,}88\%$, $O = 17{,}42\%$.
Resp. Quotient = 0,717.

Kontrollversuch 3.

14. V. 1909. Kaninchen, Gew. 3 kg, hungernd seit 36 Stunden.
11 Uhr 45 Min. 2,5 g Urethan per os.
12 Uhr 15 Min. Einführung der Trachealkanüle.
12 Uhr 28 Min. Beginn der Probenahme.
12 Uhr 58 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:
$CO_2 = 3{,}195\%$, $N = 80{,}13\%$, $O = 16{,}678\%$.
Resp. Quotient = 0,698.

Übersichtstabelle.

Versuch Nr.	Resp. Quotient	Anmerkung
1	0,905	
2	0,997	
3	0,928	
4	0,985	
5	0,902	
6	0,905	
7	0,878	
8a	0,888	
8b	0,892	
1	0,736	Kontrollversuch
2	0,717	„
3	0,698	„

Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß der respiratorische Quotient nach Ausschaltung der unteren Körperhälfte aus der Zirkulation gegenüber den Kontrollversuchen beträchtlich erhöht ist. Wie ist nun diese Veränderung zu deuten? Beweist sie eine Veränderung der Stoffwechselvorgänge oder ist sie nur durch eine besondere Einwirkung auf die Sauerstoffaufnahme oder Kohlensäureausscheidung verursacht? Wir wissen, daß die Sauerstoffaufnahme dem Sauerstoffverbrauche des Organismus immer unmittelbar parallel geht, so daß die Sauerstoffaufnahme unter allen Umständen ein Maß der Umsetzungsvorgänge ist. Dagegen fällt die Kohlensäureausscheidung und die Kohlensäurebildung zeitlich nicht unmittelbar zusammen, da Blut und Gewebe gewissermaßen ein Reservoir für die Kohlensäure darstellen, dessen Füllung und Entleerung von verschiedenartigen Faktoren beeinflußt wird. So wissen wir, daß durch vermehrte Lungenventilation der Kohlensäurevorrat des Blutes herabgesetzt wird. Wird nun in einem gegebenen Zeitmoment die Lungenventilation erhöht, so gelangt nicht nur die in dem betreffenden Zeitabschnitt gebildete Kohlensäure zur Ausscheidung, sondern es wird auch ein Teil des Kohlensäurevorrates im Blut an die Atemluft abgegeben. Wird in einem solchen Zeitmoment der respiratorische Quotient bestimmt, so muß er sich gegenüber der vorangehenden Periode erhöht zeigen, da in der Exspirationsluft ein Plus von Kohlensäure vorhanden ist. Nun zeigt der Kohlensäuregehalt in der Exspirationsluft bei den Abbindungsversuchen im Vergleich zu den Kontrollversuchen eine vermehrte Ventilation an. Denn während bei den Abbindungsversuchen die Exspirationsluft 1,8 bis 2,2% Kohlensäure enthält, zeigt sie bei den Kontrollversuchen 2,7 bis 3,2% Kohlensäure. Es fragt sich nun, ob der Befund eines erhöhten respiratorischen Quotienten durch diese Überventilation verursacht sein kann. Diesbezüglich ist zu sagen, daß die durch eine mäßige Überventilation verursachte Kohlensäureausschöpfung des Blutes nach wenigen Minuten sistiert, da bald ein der bestehenden Ventilation adäquates Kohlensäureniveau erreicht ist. Für die Verhältnisse der vorliegenden Versuche mußte noch vor Beginn der Probenahme das neue Niveau der Blutkohlensäure erreicht sein, da zwischen Gefäßligierung und Probenahme ein Zeitraum

von mindestens 15 Minuten lag. Um auch den Einfluß von eventuellen Ungleichmäßigkeiten der Atmung während der Versuche zu paralysieren, wurde die Probenahme auf mindestens 1 Stunde ausgedehnt, so daß sich vermehrte und verminderte Atmung in ihrem Einfluß auf die Kohlensäureabgabe und damit auf den respiratorischen Quotienten zu kompensieren vermochten. Endlich beweisen zwei von den Versuchen einwandfrei, daß die Erhöhung des respiratorischen Quotienten nicht durch die Besonderheiten der Atmung verursacht sein konnte. Im Versuch 7 wurde erst 1 Stunde nach der Gefäßligierung mit der Probenahme begonnen. Da aber selbst bei extremster Überventilation, wie sie Bornstein und Garsten[1]) in ihren Versuchen angewandt haben, innerhalb 1 Stunde die Kohlensäure so weit ausgepumpt ist, daß der respiratorische Quotient zur Norm zurückkehrt, so muß es als ausgeschlossen erachtet werden, daß im Versuch 7 die Erhöhung des respiratorischen Quotienten durch vermehrte Atmung verursacht sein kann. Noch beweisender in diesem Sinne ist aber Versuch 8. Hier gelang es, 2 Probenahmen hintereinander an demselben Tiere auszuführen. Die 2. Probenahme begann erst $1^1/_2$ Stunden nach der Gefäßligierung. Hätte nun die auf die Gefäßabbindung folgende Überventilation tatsächlich einen Einfluß auf den respiratorischen Quotienten gehabt, so müßte die 1. Atemprobe einen höheren respiratorischen Quotienten ergeben als die zweite. In Wirklichkeit ist der respiratorische Quotient der 1. Probenahme 0,888, der der 2. 0,892; mithin beide von gleicher Höhe.

Als weitere Erklärungsmöglichkeit für die Erhöhung des respiratorischen Quotienten könnten eventuelle Veränderungen der Alkalescenz im Blut und in den Geweben herangezogen werden. Es wäre denkbar, daß durch Ausschaltung von Leber und Nieren aus dem Kreislauf allenfalls entstehende saure Produkte des Stoffwechsels sich im Blut und den Geweben anhäufen, da der Organismus der Fähigkeit beraubt sein mag, sie zu neutralisieren (Leber) oder auszuscheiden (Niere). Säuerung der Gewebe und des Blutes müßten aber die Kohlensäure austreiben und den respiratorischen Quotienten dadurch steigern. Gegen die Annahme eines solchen Zusammenhanges lassen sich

---

[1]) Bornstein und Garsten, Pflügers Archiv 109, 628, 1905.

zahlreiche Momente anführen. Abgesehen davon, daß man experimentell bei Säurevergiftungen kein Ansteigen des respiratorischen Quotienten beobachtet hat (Chvostek)[1]), wäre es nicht zu verstehen, warum die Entladung der Kohlensäure in den Geweben immer so gleichmäßig erfolgen sollte, daß immer ein respiratorischer Quotient von 0,9 bis 1,0 resultiert. Es müßten doch unter den Versuchstieren auch solche gewesen sein, bei denen die Säuerung so rasch aufgetreten ist, daß sich der respiratorische Quotient über die Einheit erhebt.

Da es sich also ausschließen läßt, daß die im Verhältnis zur Sauerstoffaufnahme vermehrte Kohlensäureausscheidung nicht einer vermehrten Kohlensäurebildung entspricht, ergibt sich die Frage, welche Art von Stoffwechselvorgängen für die Erhöhung des respiratorischen Quotienten verantwortlich zu machen ist. In der Norm wird eine im Vergleich zum Sauerstoffverbrauch erhöhte Kohlensäurebildung auf gesteigerte Kohlenhydratverbrennung bezogen. Will man nun für unsere Resultate nicht das Auftreten ganz besonderer, bisher im Organismus nie beobachteter Umsetzungen, wie etwa eine Fettbildung aus Eiweiß u. dgl. verantwortlich machen, so muß man auch hier gesteigerte Kohlenhydratzersetzung annehmen.

Eine gesteigerte Kohlenhydratzersetzung ist in der Norm durch ein vermehrtes Angebot von Kohlenhydraten verursacht. Ein vermehrtes Angebot kann nun in unseren Versuchen nicht in Betracht kommen, da sie an nüchternen Tieren ausgeführt sind, deren Kohlenhydratreservoir und Bildungsstätte, die Leber, überdies aus der Zirkulation ausgeschaltet war. Somit erübrigt nur die Annahme, daß die gesteigerte Kohlenhydratzersetzung durch ein Unvermögen, andere Nährstoffe (Eiweiß, Fett) zu verbrennen, verursacht war.

Wir kommen somit zu dem Ergebnis, daß nach Ausschaltung der Abdominalorgane aus dem Kreislauf die Fähigkeit des Organismus, Eiweiß und Fett zu verbrennen, herabgesetzt ist. Dieses herabgesetzte Oxydationsvermögen werden wir auf die fehlende Funktion eines der ausgeschalteten Organe beziehen. Machen wir die fehlende Leberfunktion dafür verantwortlich, so können wir uns auf zahlreiche Tatsachen

---

[1]) Chvostek, Centralbl. f. inn. Med. 14, 329, 1893.

stützen, welche die Leber als ein Organ der Eiweiß- und Fettverbrennung charakterisieren, wie wir dies schon eingangs angeführt haben. So ist die Leber das Organ der Desamidierung und Harnstoffbildung, der Fettsäureoxydation usw. Wir kommen also zu dem Ergebnis, daß Eiweiß und Fette durch die Leberfunktion erst zum mindesten eine gewisse Veränderung erfahren müssen, bevor sie vom Organismus verbraucht werden können. Ist es nun auch eine willkürliche Annahme, diese Veränderung als Umbildung zu Kohlenhydrat zu bezeichnen, so entspricht sie doch am besten unseren bisherigen Kenntnissen der Stoffwechselvorgänge. Wissen wir doch, daß die Kohlenhydratbildung aus Eiweiß unter bestimmten Bedingungen bewiesen ist, die aus Fett sehr wahrscheinlich gemacht worden ist (v. Noorden und seine Schule, Pflüger und Juncker u. a.). Spricht doch schon der konstante Zuckergehalt des Blutes für eine Unentbehrlichkeit der Kohlenhydrate im Stoffwechsel. Berücksichtigen wir auf der anderen Seite die Tatsachen, die scheinbar gegen diese bevorzugte Stellung der Kohlenhydrate im Stoffwechsel sprechen, so kann das bisherige diesbezügliche Material keinen zureichenden Beweis in diesem Sinne führen. So sind namentlich die Versuche der Zuntzschen Schule (Zuntz und Löb, Heinemann, Frentzel und Reach)[1]) sowie diejenigen von Atwater und Benedikt[2]) über den Arbeitsstoffverbrauch bei verschiedenartiger Ernährung gegen eine obligate Umbildung von Eiweiß und Fett in Zucker ins Treffen geführt worden. Da sich Eiweiß und Fett in den angeführten Versuchen als fast ebenso ökonomisch arbeitende Quellen der Muskelkraft gezeigt hatten wie Kohlenhydrate, so glaubte man, eine Umbildung von Eiweiß und Fett vor dem Verbrauch ablehnen zu können, da ja diese Umbildung in Zucker mit Energieverlust verknüpft sein müßte. Von vornherein ließe sich gegen eine derartige Schlußfolgerung geltend machen, daß dieser scheinbare Verlust andersartigen, gleichzeitig vor sich gehenden Stoffwechselvorgängen, etwa gewissen Synthesen zugute kommen könnte. Weiter mag auch

[1]) Zuntz und Löb, Dubois Arch. 1894, 541. — Heinemann, Pflügers Arch. 83, 441, 1901. — Frentzel und Reach, Pflügers Arch. 83, 477, 1901. — Zuntz, Pflügers Arch. 83, 557, 1901.

[2]) Atwater und Benedikt, U. S. Dep. of agric. Bull., 1903, 136. Washington.

der resorbierte Zucker nicht immer direkt zur Arbeit herangezogen werden, sondern bei gewissem Kohlenhydratüberschuß dürfte eine mit Kraftverbrauch verknüpfte Reduktion zu Fett erfolgen, wofür die Unmöglichkeit, den Kohlenhydratbestand über ein gewisses Quantum zu steigern, spricht. Aber selbst wenn von derartigen Möglichkeiten abgesehen wird, so sind die erwähnten Versuche, so sorgfältig sie auch ausgeführt sind, nicht geeignet, die Frage der Isoenergie endgültig zu entscheiden, da die eventuell zu erwartenden Ausschläge fast noch in die Fehlergrenzen der Versuchsmethodik fallen. Wir kommen somit zu dem Ergebnisse, daß gegen die Annahme einer obligaten Umwandlung von Fett und Eiweiß in Kohlenhydrat vor deren Verwendung im Kraftstoffwechsel keine ausreichend begründete Tatsache ins Treffen geführt werden kann. Für die Annahme sprechen außer den schon erwähnten Momenten die in vorliegender Arbeit mitgeteilten Versuchsresultate.

Es erübrigt noch, unsere Befunde mit den eingangs erwähnten Versuchen von Bohr und Henriquez sowie von Scaffidi zu vergleichen. Die Versuchsanordnung von Bohr und Henriquez war nicht geeignet, verläßliche Werte für den respiratorischen Quotienten zu ermitteln, sie war ja auch nicht in dieser Absicht erdacht. Nichtsdestoweniger finden wir auch in den Versuchen dieser Autoren häufig Steigerungen des respiratorischen Quotienten nach Ligierung der Aorta sowie der Vena cava inferior, deren Ursache wohl die Leberausschaltung sein dürfte. Auch Scaffidis Versuche sind für unsere Frage insofern nicht ausreichend, als die Leber nicht total von der Zirkulation ausgeschlossen war. Immerhin finden wir den ersten Tag nach Abbindung der Portalgefäße in Scaffidis Versuchen auffallend hohe Werte für den respiratorischen Quotienten, der erst einige Tage nach der Operation, sobald sich wieder eine hinreichende Zirkulation in der Leber eingestellt hat, auf die normalen Zahlen absinkt. Scaffidi sucht diese Erscheinung durch eine Störung der Leberfunktion als Ablagerungsstätte des Glykogens zu erklären, indem er vermutet, daß nach der Leberausschaltung einerseits das Leberglykogen zu Zucker wird, andererseits das mit der Nahrung zugeführte Kohlenhydrat nicht als Glykogen zur Ablagerung gelangen kann, was beides nach seiner Ansicht eine durch vermehrtes Zuckerangebot ge-

steigerte Kohlenhydratverbrennung verursacht. Unsere Versuchsanordnung, eine totale Leberausschaltung beim nüchternen Tiere, läßt eine derartige Deutung nicht zu. Vielmehr lassen sich auch Scaffidis Versuche als Stütze der Hypothese einer obligaten Umwandlung von Fett und Eiweiß in Kohlenhydrat heranziehen.

Wir sind uns wohl bewußt, mit unseren Versuchen nur eine indirekte Antwort auf die eingangs formulierte Fragestellung gegeben zu haben. Wir werden uns auf viel sichererem Boden bewegen, wenn erst die intermediären Stoffwechselvorgänge bei der Umwandlung von Fett und Eiweiß in Kohlenhydrat aufgedeckt sind. Die gewaltigen Fortschritte der letzten Jahre auf dem Gebiete des intermediären Stoffwechsels stellen uns diese Kenntnis in nahe Aussicht und lassen erhoffen, definitive Fundamente für die mit unseren Versuchen gestützte Anschauung zu gründen.

Über den respiratorischen Quotienten pankreasdiabetischer Hunde nach Ausschaltung der Abdominalorgane.

Von

O. Porges und H. Salomon.

(Aus der I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 23. Mai 1910.)

Die Frage der Verbrennbarkeit des Zuckers im diabetischen Organismus steht im Mittelpunkt der Diabetesforschung. In der vorangehenden Arbeit wurde wahrscheinlich gemacht, daß Zucker die einzige direkte Kraftquelle ist, während Eiweiß und Fett erst eine Umwandlung erfahren müssen, bevor sie im Kraftstoffwechsel verbraucht werden können. Schaltet man die Leber aus, die diese Umprägungsarbeit von Eiweiß und Fett zu besorgen hat, so bleibt nur das Kohlenhydrat als einzige angreifbare Kraftquelle. Führt man einen solchen Versuch am diabetischen Organismus aus, so muß der respiratorische Quotient unter diesen Bedingungen zeigen, ob der Zucker verbrennbar ist oder nicht.

Unsere Versuche wurden an pankreasdiabetischen, hungernden Hunden ausgeführt. 1 bis 2 Tage nach der Totalexstirpation des Pankreas, sobald der D/N-Koeffizient einen vollständigen Diabetes anzeigte, wurden die Tiere unter Morphium-Urethannarkose in analoger Weise operiert, wie dies in der vorangehenden Arbeit bezüglich der Kaninchen beschrieben ist; dann wurde nach Zuntz-Geppert eine Probenahme der Exspirationsluft ausgeführt, die auf ca. 1 Stunde ausgedehnt wurde. Von 15 Versuchstieren überlebten nur 4 so lange, als es für die Ausführung dieser Versuche erforderlich war. Aus folgenden Auszügen der Versuchsprotokolle ist das Ergebnis unserer Versuche zu ersehen:

Versuch 1.

15. VI. 1909, 9 Uhr morgens Totalexstirpation des Pankreas.

Zeitabschnitt	Im Harn: Harnmenge ccm	Zucker %	Stickstoff %	D/N
15. VI. 5,30 Uhr nachm.				
16. „ 7,30 „ vorm.	315	4,76	1,58	3,01
16. „ 5,30 „ nachm.	280	3,67	1,95	2,39
17. „ 7,30 „ vorm.	645	2,18	0,99	2,20

17. VI. 1 Uhr Ligierung der Abdominalgefäße in Morphium-Urethannarkose.[1])

1 Uhr 15 Min. Einführung der Trachealkanüle.

1 Uhr 27 Min. Beginn der Probenahme.

2 Uhr 12 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}695\,\%$, $N = 78{,}89\,\%$, $O = 19{,}415\,\%$.

Respiratorischer Quotient = 1,13.

Versuch 2.

24. XI. 1909, 9 Uhr morgens Totalexstirpation des Pankreas.

Zeitabschnitt	Im Harn: Harnmenge ccm	Zucker %	Stickstoff %	D/N
24. XI. 5 Uhr nachm.				
25. „ 7,30 Uhr vorm.	210	4,59	1,62	2,83
25. „ 11,50 „ „	140	4,28	1,39	3,07

27. XI. 1909, 5 Uhr 30 Min. nachm. Ligierung der Abdominalgefäße.

5 Uhr 45 Min. Einführung der Trachealkanüle.

5 Uhr 59 Min. Beginn der Probenahme.

7 Uhr 9 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}69\,\%$, $N = 79{,}16\,\%$, $O = 19{,}15\,\%$.

Respiratorischer Quotient = 0,920.

Versuch 3.

1. XII. 1909, 1 Uhr mittags Totalexstirpation des Pankreas.

Zeitabschnitt	Im Harn: Harnmenge ccm	Zucker %	Stickstoff %	D/N
1. XII. 4,50 Uhr nachm.				
2. „ 7,30 „ vorm.	365	3,40	2,59	1,31
2. „ 5 „ nachm.	175	5,98	2,58	2,31

[1]) In diesen und in den folgenden Versuchen wurde pro Kilogramm Körpergewicht 1 cg Morphium injiziert. Die Größe der Urethanzufuhr ist ungewiß, da meistens Erbrechen erfolgte.

2. XII. 1909, 5 Uhr 40 Min. nachmittags Ligierung der Abdominalgefäße.

6 Uhr Einführung der Trachealkanüle.

Wegen Unruhe Versuch bis 8 Uhr unausführbar.

8 Uhr 25 Min. Beginn der Probenahme.

9 Uhr 4 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}66\,\%$, $N = 78{,}84\,\%$, $O = 19{,}50\,\%$.

Respiratorischer Quotient = 1,19.

Versuch 4.

14. III. 1910, 8 Uhr abends Totalexstirpation des Pankreas.

Zeitabschnitt	Im Harn: Harnmenge ccm	Zucker %	Stickstoff %	D/N
15. III. 7,30 Uhr vorm.				
15. „ 4,45 „ nachm.	200	5,09	1,47	3,46
16. „ 7,30 „ vorm.	180	4,65	1,77	2,62
16. „ 2 „ nachm.	125	4,13	1,45	2,84

16. III. 2 Uhr 25 Min. nachmittags Ligierung der Abdominalgefäße.

2 Uhr 30 Min. Einführung der Trachealkanüle.

2 Uhr 40 Min. Beginn der Probenahme.

3 Uhr 40 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 1{,}92\,\%$, $N = 79{,}29\,\%$, $O = 18{,}79\,\%$.

Respiratorischer Quotient = 0,859.

Kontrollversuch.

7. VI. 1909, 5 Uhr Einführung der Trachealkanüle.

5 Uhr 30 Min. Beginn der Probenahme.

6 Uhr 21 Min. Schluß der Probenahme.

Zusammensetzung der Atemprobe:

$CO_2 = 4{,}65\,\%$, $N = 80{,}31\,\%$, $O = 15{,}04\,\%$.

Respiratorischer Quotient = 0,743.

Übersichtstabelle.

Versuchs-Nr.	Respir. Quotient	Anmerkung
1	1,13	
2	0,920	
3	1,19	
4	0,859	
5	0,743	Kontrollversuch

Aus der Übersichtstabelle ist zu entnehmen, daß die Leberausschaltung bei pankreasdiabetischen Tieren zu einer nam-

haften Steigerung des respiratorischen Quotienten führt. Als Ursache dieser Steigerung könnte wieder die vermehrte Ventilation in Betracht kommen. Diese Annahme läßt sich jedoch in ähnlicher Weise widerlegen wie in der vorangehenden Arbeit bezüglich der daselbst mitgeteilten Versuche. Denn die Probenahme wurde auf längere Zeit ausgedehnt; überdies zeigt Versuch 3 $2^1/_2$ Stunden nach der Gefäßabbindung und damit nach der Veränderung der Ventilation ebenfalls einen hohen respiratorischen Quotienten. Ebensowenig kann die Morphium-Urethannarkose die Ursache der beobachteten Steigerung sein, da der ebenfalls unter dieser Narkose ausgeführte Kontrollversuch einen normalen Wert ergibt. Somit ist es gestattet, die beobachteten abnorm hohen Werte des respiratorischen Quotienten auf eine Veränderung des Stoffwechsels im Sinne erhöhter Kohlenhydratverbrennung zu beziehen. Damit sind wir aber gezwungen, dem pankreasdiabetischen Hunde die Fähigkeit zuzusprechen, Kohlenhydrat zu verbrennen.

Die Werte des respiratorischen Quotienten zeigen in diesen Versuchen untereinander nicht die schöne Übereinstimmung wie in der vorangehenden Arbeit. Auffallend sind die Werte, die sich über die Einheit erheben. Wie diese Beobachtungen zu deuten sind, muß einstweilen dahingestellt bleiben. Wir nehmen davon Abstand, diesbezüglich Vermutungen zu äußern, für die ein Beweis zunächst nicht zu erbringen ist.

Jedenfalls zeigen aber unsere Versuche im Mittel einen respiratorischen Quotienten, der auf ausschließliche Kohlenhydratverbrennung hinweist. Die Kohlenhydratverbrennung kann daher beim Pankreasdiabetes nicht beeinträchtigt sein.

In der vorangehenden Arbeit wurde wahrscheinlich gemacht, daß Zucker die einzige direkte Quelle der Muskelkraft ist. Nun läßt der diabetische Organismus keinerlei Beeinträchtigung seiner Muskeltätigkeit erkennen, die Muskulatur muß daher in normaler Weise ihren Kraftspender, den Zucker, verarbeiten. Es führt uns daher diese indirekte Schlußfolgerung zu demselben Ergebnis wie die Versuche der vorliegenden Arbeit:

Im Diabetes ist die Zuckerverbrennung nicht gestört.

Welchen Einfluß übt die genaue Ermittlung der Wasserdampftension auf die Resultate der Respirationsversuche in dem von Zuntz und Oppenheimer modifizierten Regnault-Reiset-Apparate aus?

Von

Hans Murschhauser.

(Aus der akademischen Klinik für Kinderheilkunde in Düsseldorf.)

(Eingegangen am 5. Juni 1910.)

Um das Volumen eines abgesperrten Gases feststellen und auf den Normalwert von 0° und 760 mm reduzieren zu können, müssen wir außer dem durch Auswägen oder -messen bestimmten Rauminhalt, den das Gas erfüllt, dessen Temperatur sowie den Druck, unter dem es steht, kennen.

Ist das Gas über Quecksilber aufgefangen, so steht es unter dem Drucke $p = b - h$, wobei b den reduzierten Barometerstand und h die auf 0° reduzierte, über das äußere Niveau gehobene Flüssigkeitssäule bedeutet. Befindet sich das Gas über Wasser, so lagert über dem Wasser ein Gasgemisch, das aus dem Gase und gesättigtem Wasserdampf besteht und dessen Gesamtdruck $\frac{b-h}{13{,}6}$ beträgt. Den Partialdruck p des Gases erhält man dann, wenn man von dem Gesamtdruck den Sättigungsdruck e des Wasserdampfes für die herrschende Temperatur subtrahiert, also $p = \frac{b-h}{13{,}6} - e$. Ist das Gas über Kalilauge aufgefangen, so ist $p = \frac{b - h \times s}{13{,}6} - e$, wobei s das spez. Gewicht der Flüssigkeit, e den Sättigungsdruck des Wassers über der Flüssigkeit bedeutet, der kleiner ist als der reinen Wassers.

Nimmt nun ein über Wasser stehendes Gas bei dem Barometerstand b und der Temperatur t das Volumen v ein, so ergibt sich das Volumen v_0, welches das Gas unter Normalverhältnissen des Druckes und der Temperatur, also bei 0°, 760 mm und Trockenheit einnehmen würde, aus:

$$v_0 = \frac{v(b_0 - e)}{760\,(1 + 0{,}00367 \times t)},$$

wobei b_0 der reduzierte Barometerstand, e die zu t gehörige Maximaltension des Wasserdampfes vorstellt.

Nach dieser Formel berechnet sich also das Volumen eines Gases, wenn es über Wasser abgesperrt ist und das Gas genügend Zeit gehabt hat, sich mit Wasserdampf vollständig zu sättigen. Bei Gasen, die nicht völlig mit Wasserdampf gesättigt sind, wie dies bei atmosphärischer Luft meist der Fall ist, müssen wir zur Reduktion ihres Volumens auf den Normalwert durch Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes den Partialdruck des Wasserdampfes ermitteln.

Wollen wir von diesen Gesetzen Gebrauch machen zur Berechnung des Gasvolumens im Zuntz-Oppenheimerschen Respirationsapparate, so stehen uns theoretisch zwei Wege offen.

Entweder sättigen wir zu Anfang des Versuches das Kastengas mit Wasserdampf und subtrahieren zur Ermittlung des Partialdruckes der Luft die der herrschenden Temperatur entsprechende Maximaltension des Wasserdampfes vom jeweiligen Barometerdruck, oder aber wir unterlassen die Sättigung, bestimmen die relative Feuchtigkeit des Kastengases und subtrahieren den diesem Feuchtigkeitsgrad bei der bekannten Temperatur entsprechenden Druck vom Barometer und berechnen so das Volumen.

Bisher verfuhren wir nach dem ersten Modus und haben, wie Oppenheimer, der bereits vor uns zahlreiche Versuche ausgeführt hat, das Kastengas zu Beginn des Versuches mit Wasserdampf zu sättigen versucht, indem wir den Kasten mit feuchten Tüchern auswischten oder mit Wasser ausspritzten. Ohne uns davon zu überzeugen, ob diese Manipulation wirklich eine Sättigung der Luft mit Wasserdampf herbeiführte, und berechneten wir Anfangsvolumen unter Abzug der Maximalwasserdampftension für die herrschende Temperatur. In gleicher Weise wurde für die Berechnung des Endvolumens ohne Kontrolle für die Richtigkeit die Maximaltension für Wasser angenommen.

Da ich nun bei den zahlreichen mit aller Sorgfalt ausgeführten Versuchen häufig beträchtliche Stickstoffehler erhielt, da ferner der Stickstoffehler stets positiv ausfiel, suchte ich mir über meine längst gehegte Vermutung, daß das Auswischen mit Wasser bei offenem Kasten eine Sättigung der Luft mit Wasserdampf nicht herbeiführen könne, durch Messungen des Feuchtigkeitsgrades Klarheit zu verschaffen. An einem empfindlichen

Hygrometer verfolgte ich die Wirkung des Auswischens 1. bei geschlossenem, 2. bei offenem Kasten und machte die meine Vermutung bestätigende Beobachtung, daß das Hygrometer im ersten Falle nach dem Auswischen nur um ca. 10 bis 12 Feuchtigkeitsgrade anstieg, niemals jedoch den Sättigungsgrad erreichte; bei offenem Kasten war oft kaum eine wesentliche Steigerung zu beobachten. Die Zunahme war eine langsame und unregelmäßige und bei wiederholten Versuchen nicht nur eine wechselnde, sondern nach verschiedenen Zeiten eine verschiedene. Es ist klar, daß durch Nichtbeachtung dieses Faktors in der Berechnung des Anfangsvolumens Fehler entstehen mußten, die von den wirklichen Werten je nach der zwischen Auswischen des Kastens und Beginn des Versuches verstrichenen Zeit variierten.

Um mir über die Größe des durch Vernachlässigung der Wasserdampftension möglichen Fehlers ein Urteil zu verschaffen, stellte ich zunächst vergleichende Berechnungen an. Nehmen wir beispielsweise das Kastenvolumen zu 207 l, das Kastengas am Anfang des Versuches bei einem Barometerstande von 765,0 mm Hg bei der Temperatur von 20° als mit Wasserdampf gesättigt an, so berechnet sich das Anfangsvolumen nach der oben angegebenen Formel zu 189,700 l. Reduzieren wir andererseits bei demselben Barometerstand und der gleichen Temperatur unter der Annahme, daß die Luft absolut trocken ist, das Kastengas auf Normalverhältnisse, so erhalten wir ein Anfangsvolumen von 194,115 l.

Es kann somit schon in der Berechnung des Anfangsvolumens eine Differenz von 4,415 l zustande kommen, die nur auf Nichtberücksichtigung der Wasserdampftension zurückzuführen ist. Nehmen wir ferner der Einfachheit halber an, daß Barometerstand und Temperatur am Schlusse des Versuches den Anfangswerten entsprechen und berechnen, wie dies bisher geschehen, unter Heranziehung der Maximalwasserdampftension das Endvolumen wieder zu 189,700 l, so erwächst uns, wenn die Anfangsluft absolut trocken war, zur Berechnung aber die Sättigungstension angenommen wurde, bei Zugrundelegung gleicher prozentualer Zusammensetzung der Anfangs- und Endluft (= 79,07 % N) ein positiver Stickstoffehler von 3,491 l.

Wenn nun auch der Fehler niemals so groß ausfällt, da die Anfangsluft niemals absolut trocken ist, so kann doch der

N-Fehler bei einem Feuchtigkeitsgrade der Anfangsluft von 40% und einem solchen von 100% der Endluft 2,095 l betragen. Differenzen von solcher Höhe liegen nun in der Tat vor. —

Nachdem ich mich also überzeugt hatte, daß durch das Auswischen des Apparates mit feuchten Tüchern keine auch nur annähernde Sättigung der Luft mit Wasserdampf zu erzielen war, suchte ich die Bedingungen festzustellen, unter denen eine Sättigung der Anfangsluft erreicht werden könnte. Ich tat dies, weil ich einerseits bei Respirationsversuchen die Einführung eines Hygrometers in den Apparat umgehen und andererseits Anfangs- und Endverhältnisse möglichst gleichmäßig gestalten wollte.

Wie nun bekannt, befindet sich bei dem Respirationsapparate von Zuntz und Oppenheimer die etwa 1 bis 2 l betragende Absorptionsflüssigkeit für Kohlensäure in einem besonderen eisernen ca. 20 l fassenden Gefäße; der über der Absorptionsflüssigkeit stehende Gasraum steht durch zwei lange Gummischläuche mit dem eigentlichen Atmungsraum von etwa 185 l Fassungsvermögen in Verbindung. In dem System steht also über einer geringen Flüssigkeitsmenge mit einer relativ kleinen Oberfläche ein sehr großes Gasvolumen. Daß die Sättigung dieses großen Gasvolumens, bei dem die Durchmischung von Luft mit Wasserdampf noch dadurch erschwert wird, daß die beiden Räume durch Schläuche getrennt sind, sich sehr langsam vollziehen dürfte, kann nicht bestritten werden; ein diesbezüglicher Versuch, bei dem das Gas im abgeschlossenen Kasten zwei Tage über 2 l Wasser bei unbewegter Wasseroberfläche gehalten wurde, führte zu dem Ergebnis, daß der Wasserdampfgehalt der Luft innerhalb der zwei Tage von 71 auf 81% stieg. Bei der Konstruktion des Apparates besteht aber doch die Möglichkeit, innerhalb etwa 30 Minuten eine vollständige Sättigung zu erzielen. Man braucht nur etwa 0,5 l Wasser in das Absorptionsgefäß einzufüllen, den Kasten zu verschließen, Pumpe und Ventilator in Tätigkeit zu setzen, dann steigt von Minute zu Minute Feuchtigkeitsgehalt und Dampftension, wie Hygrometer und Manometer zeigen. Es ließe sich demnach auf dem eben beschriebenen Wege eine Sättigung der Anfangsluft mit Wasserdampf herbeiführen und somit unter

Berücksichtigung der Manometer- und Thermobarometerangaben das Volumen berechnen. In dem Momente aber, wo wir den Kasten öffnen, um das Versuchsobjekt in denselben zu bringen, tritt eine Verschiebung sämtlicher Werte ein, und der Berechnung fehlen die nötigen Grundlagen. Praktisch verwertbar ist also auch diese Methodik nicht, und so erschien es mir zweckmäßiger, von dem Problem der Erreichung einer Maximaltension für den Beginn des Versuches abzugehen und die Bedingungen für den Anfang so zu belassen, wie sie in dem ganzen Versuchszimmer waren.

Ich verzichtete deshalb darauf, die Anfangsluft mit Wasserdampf zu sättigen und führte vor Beginn des Versuches ein empfindliches Haarhygrometer in den Kasten ein, dessen 100 Punkt ich vor jedem Versuche kontrollierte. Nach Verlauf etwa einer halben Stunde, innerhalb welcher Zeit das Hygrometer sich lange auf einen festen Punkt eingestellt hat, lese ich sämtliche Daten, sowie den Hygrometerstand ab, fülle dann die Lauge in das Absorptionsgefäß ein und beginne sofort mit dem Versuch. Es ist ausgeschlossen, daß sich in der kurzen Frist zwischen Einfüllen der Lauge und Beginn des Versuches ein wesentlicher Einfluß auf die Wasserdampftension der Luft durch die Lauge geltend machen könnte.

So kann ich jetzt mit allen zur Reduktion eines Gasvolumens auf seine Normalverhältnisse nötigen Angaben aus abgelesenen Daten die Berechnung vornehmen.

Es wurde oben bereits erwähnt, daß die Berechnung des Endvolumens des Kastengases in der gleichen Weise wie beim Anfangsvolumen unter Annahme der Maximaltension für über Wasser abgesperrte Gase erfolgte. Ganz abgesehen davon, daß die Heranziehung der Maximaltension jedweder Kontrolle entbehrte, war es nicht angängig, die Dampftension reinen Wassers zur Berechnung zu verwerten, da sich unser Endgas über 50% Kalilauge befand, deren Tension bedeutend geringer ist, als die reinen Wassers.

Da ich nun das Hygrometer einmal eingeführt und im Kasten so befestigt hatte, daß ich auch während des Versuches Ablesungen vornehmen konnte, da ich ferner nicht die volle Überzeugung hatte, daß die Endluft wirklich mit Wasserdampf gesättigt war, und da ich ferner Bedenken trug, ob bei dem

Bau des Respirationsapparates die Dampftension durch die starke Lauge bestimmt wird, oder ob sie unabhängig von dem gelösten Kaliumhydroxyd bleibt, beließ ich das Hygrometer auch während der Versuche im Kasten und berechnete nach dessen Angaben zusammen mit den übrigen Daten das Endvolumen. Wie wichtig die Hygrometerangaben für die wahre Beurteilung der Wasserdampfverhältnisse und somit auch für die richtige Berechnung des Endvolumens der Versuche sind, ist aus den später anzuführenden Protokollen zu ersehen. Es hat sich nämlich gezeigt, daß der Wasserdampfgehalt der Luft am Schlusse dreistündiger Versuche durchaus nicht in allen Fällen 100% betrug; daß er oft 100% erreichte und in den meisten Fällen wenigstens 90% überschritt, beweist, daß die Tension durch die Kalilauge nicht beeinflußt wird, daß sie sich vielmehr so verhält, als ob das Gas über reinem Wasser stünde, eine Tatsache, die nur dadurch eine Erklärung findet, daß die Ventilation nicht hinreicht, die durch Respiration und Perspiration abgegebenen Wassermengen rasch genug in die Lauge überzuführen.

Ich habe nun bei einer Anzahl von Respirationsversuchen mit Säuglingen vergleichende Berechnungen angestellt, indem ich einmal die Volumina ohne Berücksichtigung der Dampfspannung bzw. unter Zugrundelegung der Maximaltension für die jeweilige Temperatur, einmal mit Berücksichtigung der durch die Hygrometerangaben bestimmten Tension berechnete. Da die N-Fehler im zweiten Falle sich auf sehr niedrige Werte reduzierten, galt die Dampftensionsfrage für mich als entschieden. Den direkten Beweis für die Notwendigkeit einer exakten Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft glaubte ich aber nur durch Eichungsversuche führen zu können, da diese die Möglichkeit einer Beurteilung der Resultate an die Hand geben. Deshalb habe ich neuerdings zwei Eichungsversuche des Apparates durch Abbrennen von Alkohol vorgenommen und die Berechnung der Volumina nach drei verschiedenen Richtungen ausgeführt, um die Unterschiede in den Resultaten recht deutlich hervorzuheben.

Die Berechnung erfolgte:

1. So wie es früher geschehen, unter Zugrundelegung der Maximaltension am Anfange und Ende der Versuche (Protokoll 1 und 4).

2. Mit Berücksichtigung der durch die Hygrometerablesung am Anfange und Ende gegebenen Dampftensionen unter gleichzeitiger Benutzung von Manometer- und Thermobarometerangaben (Protokoll 2 und 5).

3. Wie bei 2, unter Weglassung der Thermobarometerangaben, also durch Berechnung des Anfangs- und Endvolumens aus Barometer, Manometer, Hygrometer und Thermometer am Anfang und Ende (Protokoll 3 und 6).

Ich lasse nun zunächst die Protokolle der beiden Eichungsversuche in den verschiedenen Berechnungsarten folgen:

Alkoholversuch vom 29. April 1910.

Spez. Gew. des Alkohols bei 15,5° C = 0,8532 = 78,04 Gew.-% C_2H_5OH.
Verbrannt = 48,97 g Alkohol = 38,216 g C_2H_5OH.
„ = 0,064 g Docht.

Diese 38,216 g C_2H_5OH geben bei der Verbrennung = 73,109 g Kohlensäure = 37,311 l und verbrauchen 79,755 g Sauerstoff = 55,812 l.

Diese 0,064 g Docht geben bei der Verbrennung 0,104 g Kohlensäure und verbrauchen 0,075 g Sauerstoff, wenn man Docht gleich reiner Cellulose setzt.

Protokoll 1.

Anfangswerte:

Temp. 20,8° C; Bar. corr. 755,4; Manometer + 0,13; Thermobar. — 0,09; Hygrom. 100 bei 20,8° C; p_w [1]) = 18,3.

Endwerte:

Temp. 20,8° C; Bar. corr. 756,3; Manometer + 20,15; Thermobar. — 1,85; Hygrom. 100 bei 20,8° C; p_w = 18,3.

Anfangsvolum:	207,425 l,	bei 20,8° C	und	737,32 mm Hg	= 186,961 l.
Endvolum:	207,425 l,	„ 20,8° C	„	759,1 „	„ = 192,486 l.

Analysen:

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,05%	0,00%	CO_2 = 0,19%
O_2 = 20,86 „	21,38 „	O_2 = 97,49 „
N_2 = 79,09 „	78,62 „	N_2 = 2,32 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,000 l.
Nachher „ . . . . . = 41,154 l.
2,154 l.

[1]) p_w = Wasserdampftension.

Anfangsgewicht des Gasometers = 19,840 kg bei 17,65° C u. 755,3 mm Hg.[1])
Endgewicht „ „ = 83,680 kg bei 17,25° C u. 756,3 mm Hg.[2])

Zugeführt . . . . = 58,558 l bei 0° C und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 1,358 l.
„ „ CO_2 in O_2 = 0,111 l.
„ „ = 2,154 l.

Netto-Sauerstoffverbrauch = 54,935 l = 78,501 g.
Davon ab für verbrannten Docht . . . = 0,075 g
Verbraucht für Alkohol . . . . . = 78,426 g = 54,882 l.
Berechnet . . . . . = 79,755 g = 55,812 l.
Differenz = — 1,329 g = — 0,930 l.
Fehler = — 1,66 %.

CO_2-Bilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,093 l.
Nachher „ . . . . . = 0,000 l.
= 0,093 l = 0,184 g.
Lauge zu Beginn . . . . . = 6,904 g CO_2.
„ am Ende . . . . . = 80,240 g CO_2.
73,336 g CO_2.
Davon ab aus Anfangsluft . . . = 0,184 g.
73,152 g.
Ab für verbrannten Docht . . . = 0,104 g.
Gefunden für Alkohol . . . . . = 73,048 g CO_2 = 37,280 l.
Berechnet . . . . . = 73,109 g CO_2 = 37,311 l.
Differenz = 0,061 g CO_2 = 0,031 l.
Fehler = — 0,08 %.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 147,866 l.
Nachher „ . . . . . = 151,331 l.
3,465 l.
Durch Sauerstoff (= 2,32 % N) zugeführt = 1,358 l.
+ 2,107 l.
Von außen zugeführt . . . . . = — 0,010 l.
Fehler = + 2,097 l.

Protokoll 2.

Anfangswerte:

Temp. 20,8° C; Bar. corr. 755,4; Manometer + 0,13; Thermobar. — 0,09; Hygrometer 50 bei 20,8° C; $p_w = 9,15$.

Endwerte:

Temp. 20,8° C; Bar. corr. 756,3; Manometer + 20,15; Thermobar. — 1,85; Hygrometer 100 bei 20,8° C; $p_w = 18,3$.

Anfangsvolum: 207,425 l bei 20,8° C und 746,47 mm Hg = 189,283 l.
Endvolum: 207,425 l „ 20,8° C „ 759,1 „ „ = 192,486 l.

[1]) Thermobar.: 109,35
[2]) „ 108,96
} Mittel = 109,16 = 58,559 l.

Analysen:

der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:

wie Protokoll 1.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . = 39,484 l.
Nachher „ . . . = 41,154 l.
1,670 l.
Aus Gasometer . . . . = 57,089 l (s. Protok. 1).

Netto-Sauerstoffverbrauch = 55,419 l = 79,193 g.
Davon ab für verbrannten Docht . . . = 0,075 g.
Verbraucht für Alkohol . . . . . = 79,118 g = 55,367 l.
Berechnet . . . . . = 79,755 g = 55,812 l.
Differenz = — 0,637 g = 0,445 l.
Fehler = — 0,78 %.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . = 0,095 l
Nachher „ . . . = 0,600 l
= 0,095 l = 0,186 g.
Aus Lauge . . . . . = 73,336 g.
Davon ab aus Anfangsluft . . . . = 0,186 g.
= 73,150 g.
Ab für verbrannten Docht . . . . = 0,104 g.
Gefunden für Alkohol . . . . . = 73,046 g CO_2 = 37,279 l.
Berechnet . . . . . = 73,109 g CO_2 = 37,311 l.
Differenz = 0,063 g CO_2 = 0,032 l.
Fehler = — 0,08 %.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 149,703 l.
Nachher „ . . . . . = 151,331 l.
= 1,628 l.
Durch Sauerstoff (enthaltend = 2,32 % N)
zugeführt . . . . . = 1,358 l.
= 0,270 l.
Von außen zugeführt . . . . . = 0,010 l.
Fehler = + 0,26 l.

Protokoll 3.

Anfangswerte:

Temp. 20,8° C; Bar. corr. 755,4; Manometer + 0,13; Thermobar. — —;
Hygrom. 50 bei 20,8° C; p_w = 9,15.

Endwerte:

Temp. 20,8° C; Bar. corr. 756,3; Manometer + 20,15; Thermobar. — —;
Hygrom. 100 bei 20,8° C; p_w = 18,3.

Anfangsvolum: 207,425 l bei 20,8° C und 746,38 mm Hg = 189,260 l.
Endvolum: 207,425 l „ 20,8° C „ 758,15 „ „ = 192,244 l.

Analysen:
der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:
wie Protokoll 1.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	= 39,479 l.	
Nachher „	= 41,102 l.	
	= 1,623 l.	
Aus Gasometer	= 57,089 l.	
Netto-Sauerstoffverbrauch	= 55,466 l	= 79,260 g.
Davon ab für verbrannten Docht	= 0,075 g.	
Verbraucht für Alkohol	= 79,185 g	= 55,413 l.
Berechnet	= 79,755 g	= 55,812 l.
Differenz	= — 0,570 g	= 0,399 l.

Fehler = — 0,71 %.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden	= 0,095 l CO_2.	
Nachher „	= 0,000 l „	
	= 0,095 l	= 0,186 g.
Aus Lauge	= 73,336 g.	
Davon ab aus Anfangsluft	= 0,186 g.	
	= 73,150 g.	
Ab für verbrannten Docht	= 0,104 g.	
Gefunden für Alkohol	= 73,046 g CO_2	= 37,279 l.
Berechnet	= 73,109 g „	= 37,311 l.
Differenz	= — 0,063 g	— 0,032 l.

Fehler = — 0,08 %.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden	= 149,686 l.
Nachher „	= 151,141 l.
	= 1,455 l.
Durch Sauerstoff (enthaltend 2,32 % N) zugeführt	= 1.358 l.

Fehler = + 0,097 l.

Alkoholversuch vom 2. Mai 1910.

Spez. Gew. des Alkohols bei 15,5° C = 0,8532 = 78,04 Gew.-% C_2H_5OH.
Verbrannt = 60,01 g Alkohol = 46,83 g C_2H_5OH.
„ = 0,050 g Docht.

Diese 46,83 g C_2H_5OH geben bei der Verbrennung = 89,58 g Kohlensäure = 45,717 l und verbrauchen 97,73 g Sauerstoff = 68,391 l.

Die 0,050 g Docht geben bei der Verbrennung 0,081 g Kohlensäure und verbrauchen 0,060 g Sauerstoff, wenn man verbrannten Docht gleich reiner Cellulose zur Berechnung annimmt.

Protokoll 4.

Anfangswerte:

Temp. 20,3° C; Bar. corr. 756,9; Manometer + 0,20; Thermobar. — 0,11; Hygrom. 100 bei 20,3° C; p_w = 17,7.

Endwerte:

Temp. 20,3° C; Bar. corr. 756,5; Manometer + 2,07; Thermobar. — 0,92; Hygrom. 100 bei 20,3° C; $p_w = 17{,}7$.

Anfangsvolum: 207,425 l, bei 20,3° C und 739,51 mm Hg = 187,708 l.
Endvolum: 207,425 l, „ 20,3° C „ 742,19 „ „ = 188,470 l.

Analysen:

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07 %	0,00 %	CO_2 = 0,00 %
O_2 = 20,86 „	19,38 „	O_2 = 97,62 „
N_2 = 79,07 „	80,62 „	N_2 = 2,38 „
100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,156 l.
Nachher „ . . . . . = 36,525 l.
2,631 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 20,260 kg bei 18,35° C u. 757,1 mm Hg.[1])
Endgewicht „ „ = 92,920 kg bei 17,75° C u. 756,5 mm Hg.[2])
Zugeführt . . . . . = 66,560 l bei 0° C u. 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 . . . = 1,584 l.
„ „ CO_2 in O_2 . . . = 0,000 l.
Dazu . . . . . = 2,631 l.
Nettosauerstoffverbrauch = 67,607 l = 96,610 g.
Davon ab für verbrannten Docht = 0,060 g
Verbraucht für Alkohol . . . . . = 96,550 g Sauerstoff = 67,565 l.
Berechnet . . . . . = 97,73 g „ = 68,391 l.
Differenz = — 1,18 g Sauerstoff — 0,826 l.
Fehler = — 1,21 %.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,131 l CO_2.
Nachher „ . . . . . = 0,000 l CO_2.
= 0,131 l CO_2 = 0,257 g.
Lauge zu Beginn . . . . . = 6,904 g CO_2.
„ am Ende . . . . . = 96,475 g CO_2.
= 89,571 g CO_2.
Davon ab aus Anfangsluft . . . . = 0,257 g CO_2.
= 89,314 g CO_2.
Ab für verbrannten Docht . . . . = 0,081 g CO_2.
Gefunden für Alkohol . . . . . = 89,238 g CO_2 = 45,538 l.
Berechnet . . . . . = 89,580 g CO_2 = 45,717 l.
Differenz = 0,347 g CO_2 = 0,179 l.
Fehler = — 0,39 %.

[1]) Thermobar: 109,43 } Mittel = 109,33 = 66,552 l.
[2]) „ 109,24 }

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 148,420 l.
Nachher „ . . . . . = 151,943 l.
= 3,523 l.
Durch Sauerstoff (enthaltend = 2,38 % N) zugeführt . . . . . = 1,584 l.
+ 1,939 l.
Von außen zugeführt . . . . . = 0,010 l.
Fehler = + 1,929 l.

Protokoll 5.

Anfangswerte:

Temp. 20,3° C; Bar. corr. 756,9; Manometer + 0,20; Thermobar. — 0,11; Hygrom. 53 bei 20,3° C; $p_w = 9{,}38$.

Endwerte:

Temp. 20,3° C; Bar. corr. 756,5; Manometer + 2,07; Thermobar. — 0,92; Hygrom. 100 bei 20,3° C; $p_w = 17{,}7$.

Anfangsvolum: 207,425 l, bei 20,3° C und 747,83 mm Hg = 189,952 l.
Endvolum: 207,425 l, „ 20,3° C „ 742,29 „ „ = 188,470 l.

Analysen:

der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:
wie Protokoll 4.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,624 l.
Nachher „ . . . . = 36,525 l.
= 3,099 l.
Dazu aus Gasometer . . . . = 64,976 l.
Nettosauerstoffverbrauch = 68,075 l = 97,280 g.
Davon ab für verbrannten Docht = 0,060 g
Verbraucht für Alkohol . . . = 97,220 g = 68,035 l.
Berechnet . . . . . = 97,730 g = 68,391 l.
Differenz = — 0,51 g — 0,356 l.
Fehler = — 0,52 %.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,133 l.
Nachher vorhanden . . . . . = 0,000 l.
= 0,133 l = 0,260 g.
Aus Lauge . . . . . = 89,571 g.
Davon ab aus Anfangsluft . . . . = 0,260 g.
= 89,311 g.
Ab für verbrannten Docht . . . = 0,081 g.
Gefunden für Alkohol . . . . . = 89,230 g CO_2 = 45,538 l.
Berechnet . . . . . = 89,580 g CO_2 = 45.717 l.
Differenz = — 0,350 g CO_2 — 0,179 l.
Fehler = — 39 %.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 150,193 l.
Nachher vorhanden . . . . . = 151,943 l.
= 1,750 l.
Durch Sauerstoff (enth. 2,38 % N)
zugeführt . . . . . = 1,584 l.
= 0,166 l.
Von außen zugeführt . . . . . = 0,010 l.
Fehler = + 0,156 l.

Protokoll 6.

Anfangswerte:

Temp. 20,3° C; Bar. corr. 756,9; Manometer + 0,30; Thermobar. —
Hygrom. 53 bei 20,3° C; $p_w = 9{,}38$.

Endwerte:

Temp. 20,3° C; Bar. corr. 756,5; Manometer + 2,07; Thermobar. —
Hygrom. 100 bei 20,3° C: $p_w = 17{,}7$.

Anfangsvolum: 207,425 l, bei 20,3° C und 747,72 mm Hg = 189,926 l.
Endvolum: 207,425 l, „ 20,3° C „ 740,87 „ „ = 188,183 l.

Analysen:

der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:
wie Protokoll 4.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,618 l.
Nachher „ . . . . . = 36,469 l.
= 3,149 l.
Dazu aus Gasometer . . . . = 64,976 l.
Nettosauerstoffverbrauch = 68,125 l = 97,348 g.
Davon ab für verbrannten Docht = 0.060 g.
Verbraucht für Alkohol . . . = 97,288 g = 68,083 l.
Berechnet . . . . . = 97,730 g = 68,391 l.
Differenz = 0,442 g = 0,308 l.
Fehler = — 0,45 %.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 0,133 l CO_2.
Nachher „ . . . . = 0,0001 l CO_2.
= 0,133 l CO_2 = 0,260 g CO_2.
Aus Lauge . . . . . = 89,571 g CO_2.
Davon ab aus Anfangsluft = 0,260 g CO_2.
= 89,311 g CO_2.
Ab für verbrannten Docht = 0,081 g CO_2.
Gefunden für Alkohol . . = 89,230 g CO_2 = 45,538 l.
Berechnet . . . . . = 89,580 g CO_2 = 45,717 l.
Differenz = 0,350 g CO_2 = 0,179 l.
Fehler = — 0,39 %.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden	= 150,173 l.
Nachher „	= 151,786 l.
	= 1,613 l.
Durch Sauerstoff (enthaltend 2,38 % N) zugeführt	= 1,584 l.
	= 0,029 l.
Von außen zugeführt	= 0,010 l.

Fehler = + 0,019 l.

Zur Kritik wollen wir den ersten Spiritusversuch vom 29. April 1910 heranziehen. Im Protokoll 1 nahmen wir zur Berechnung des Anfangsvolumens den Wasserdampfgehalt der Luft zu 100 %, entsprechend einer Tension von 18,3 mm Quecksilber bei 20,8° C an. Wir berechnen das Volumen nach

$$v_0 = \frac{207{,}425\,(b - 18{,}3)}{760 \cdot (1 + 0{,}00367 \cdot 20{,}8)}$$

zu 186,961 l. Demnach betrug, da die Anfangsluft 20,86 % Sauerstoff und 79,09 % Stickstoff enthielt, das Sauerstoffvolumen derselben 39,00 l, das Stickstoffvolumen 147,866 l. Legen wir hingegen der Berechnung nach dem Stande des Hygrometers „50" (Protokoll 2) die wahre Wasserdampftension von 9,15 mm Quecksilber bei 20° C zugrunde, so erhalten wir nach

$$v_0 = \frac{v\,(b - 9{,}15)}{760\,(1 + 0{,}00367 \cdot 20{,}8)} = 189{,}283\text{ l},$$

also in diesem Falle 39,484 l Sauerstoff und 149,703 l Stickstoff in der Anfangsluft. Die Differenz zwischen den nach den zwei verschiedenen Berechnungsarten erhaltenen Voluminis beträgt demnach 2,322 l Luft bzw. 0,484 l Sauerstoff und 1,837 l Stickstoff. Wir berechnen im ersten Falle ein zu kleines Anfangsvolumen, weil wir als Wasserdampf subtrahieren, was in Wirklichkeit Luft ist, und finden folglich in der Anfangsluft weniger Sauerstoff und Stickstoff, als wirklich vorhanden sind. Der Kohlensäuregehalt wird durch die falsche Volumenberechnung kaum tangiert, weil er zu gering ist.

Das Endvolumen berechnet sich in beiden Fällen gleich, da der Wasserdampfgehalt der Endluft nach Messung 100 % entsprechend 18,3 mm Tension bei 20,8° C beträgt. Das Endvolumen betrug demnach 192,486 l und, da die Endluft 21,38 % Sauerstoff und 78,62 % Stickstoff enthielt = 41,154 l Sauerstoff und 151,331 l Stickstoff.

Bei Aufstellung der Stickstoffbilanz erhalten wir (der durch Sauerstoff zugeführte Stickstoff ist in beiden Fällen derselbe) nach Berechnung 1 (Protokoll 1), da die Tension zu hoch eingeschätzt, das Anfangsvolumen zu niedrig berechnet wurde und folglich vom Stickstoff des Endvolumens ein zu niedriger Wert subtrahiert wurde, einen positiven Stickstoffehler von 2,097 l, der sich durch die richtige Volumenberechnung mit Hilfe der Hygrometerangabe (Protokoll 2) auf 0,26 l reduziert. Ähnlich sind die

Verhältnisse bei Aufstellung der Sauerstoffbilanz. Unter Annahme der Maximaltension für Wasserdampf (Protokoll 1) berechnen wir einen Sauerstoffgehalt der Anfangsluft von 39,000 l, unter Heranziehung der wahren Dampftension von 9,15 mm einen Gehalt von 39,484 l. Subtrahieren wir diese Werte von dem für beide Berechnungen gleichen Sauerstoffvolumen der Endluft = 41,154 l, so erhalten wir

für 1 eine Differenz von 2,154 l
für 2 „ „ „ 1,670 l.

Die richtige Volumberechnung mittels der durch die Hygrometerdaten gegebenen wahren Tensionsverhältnisse dokumentiert sich dadurch, daß der nach der Berechnung 2 erhaltene Wert für Sauerstoffverbrauch dem theoretischen viel näher kommt als der im Falle 1 gefundene. Nach Berechnung 1 wurden im ganzen 54,882 l, nach Berechnung 2: 55,367 l Sauerstoff verbraucht, während der theoretisch berechnete Wert 55,812 l beträgt.

1 weicht demnach um $-1{,}66\,\%$
2 nur um $-0{,}78\,\%$

vom theoretischen Werte ab.

Ich habe eine dritte Berechnung angestellt, um zu ersehen, ob die Thermobarometerdaten der Temperaturablesung im Kasten vorzuziehen sind. Die Berechnung erfolgte wie bei 2 unter Berücksichtigung der wahren Wasserdampftension. Statt der Thermobarometerablesung wurde die Temperatur, die im Kasten am Anfange und Schlusse herrschte, zur Berechnung der Volumina herangezogen. Wie aus dem Protokoll 3 zu ersehen ist, hat sich hierbei der Stickstoffehler noch weiter reduziert, auf $+0{,}097$ l. Desgleichen ist der Sauerstoffehler auf $-0{,}71$ heruntergegangen. — Ähnlich wie bei diesem ersten Spiritusversuche sind die Verhältnisse beim Spiritusversuche vom 2. Mai 1910, nur daß hier die Werte bei Berücksichtigung der Hygrometerangaben noch weit besser ausgefallen sind als beim ersten Versuche. Der Sauerstoffehler beträgt hier nur $-0{,}52\,\%$, der Stickstoffehler $+0{,}156$ l und bei Berechnung der Volumina unter Heranziehung der Temperaturen im Kasten an Stelle der Thermobarometerangaben für Sauerstoff $-0{,}45\,\%$, der Stickstoffehler $+0{,}019$ l.

Der Übersicht wegen stelle ich die Resultate meiner Versuche nochmals kurz zusammen, indem ich die Fehler für Kohlensäure und Sauerstoff in Prozenten der berechneten Werte, die Stickstoffdifferenzen in Litern angebe:

A bedeutet Versuch vom 29. April 1910.
B „ „ „ 2. Mai 1910.

I. Volumen berechnet aus b, t, Manometer, Thermobarometer, Hygrometer = $100\,\%$.

	A	B	Mittel
CO_2 =	$-0{,}08\,\%$	$-0{,}39\,\%$	$-0{,}23\,\%$
O_2 =	$-1{,}66$ „	$-1{,}21$ „	$-1{,}43$ „
N-Differenz =	$+2{,}097$ l	$+1{,}929$ l	$+2{,}013$ l

II. Volumen berechnet aus b, t, Manometer, Thermobarometer, Wasserdampftension nach den Angaben des Hygrometers.

	A	B	Mittel
CO_2 =	— 0,08%	— 0,39%	— 0,23%
O_2 =	— 0,78 „	— 0,52 „	— 0,65 „
N-Differenz =	+ 0,26 l	+ 0,156 l	+ 0,208 l

III. Volumen berechnet aus b, t, Manometer, Wasserdampftension nach den Angaben des Hygrometers.

	A	B	Mittel
CO_2 =	— 0,08%	— 0,39%	— 0,23%
O_2 =	— 0,71 „	— 0,47 „	— 0,58 „
N-Differenz =	+ 0,097 l	+ 0,019 l	+ 0,058 l

Die Zusammenstellung zeigt deutlich die Notwendigkeit einer exakten Feststellung der Wasserdampftension für den Ausfall der Versuchsresultate. Durch Unterlassung der Tensionsbestimmung, bzw. bei unberechtigter Zugrundelegung der Maximaltension für die Berechnung des Anfangs- resp. Endvolumens entstehen positive N-Fehler von ganz beträchtlicher Höhe. Aber auch der Sauerstoffwert wird durch die falsche Volumberechnung wesentlich verschlechtert; dagegen nicht der Kohlensäurewert, da die Hauptmenge der Kohlensäure von der Lauge chemisch gebunden wird. Nach den Resultaten, die bei Ersatz des Thermobarometers durch die Temperaturangaben erhalten wurden, möchte man geneigt sein, anzunehmen, daß die Thermometerwerte für die Berechnung der Volumina zuverlässiger seien als die Thermobarometerdaten. Dies mag für Alkoholversuche, bei denen man nach dem erfolgten Abbrennen des Alkohols bis zum völligen Ausgleich zwischen Wannen- und Kastentemperatur beliebig lange ventilieren kann, wohl zutreffen; für Respirationsversuche hat zweifellos das Thermobarometer den Vorzug.

Ehe ich die Besprechung der Spiritusversuche abschließe, möchte ich einen Hinweis darauf geben, daß meine Resultate in der Tat noch besser zu beurteilen sein dürften, als die Tabelle zeigt. Man wird mir zugeben, daß beim Abbrennen von Alkohol in einer gewöhnlichen Spirituslampe die Möglichkeit besteht, daß ein kleiner Teil des Alkohols unverbrannt vergast. Es liegen nun Gründe für die Annahme vor, daß die gefundenen Kohlensäurewerte stets zuverlässiger sind als die Sauerstoffwerte: Der größte Teil des Gases geht in die Lauge über; die Bestimmung der Kohlensäure in der Lauge liefert nach dem Verfahren von Fresenius-Claassen nach Prüfungen, die ich selbst angestellt, theoretische Werte; die geringen Kohlensäurefehler, die bei den Luftanalysen gemacht werden können oder durch falsche Volumberechnung entstehen, beeinflussen den Kohlensäurewert nicht wesentlich. Für die Sauerstoffresultate dagegen bestehen weit mehr Fehlermöglichkeiten, da die geringsten Differenzen bei den für die Volumberechnung nötigen Daten schon beträchtliche Fehler veranlassen können.

Nehme ich also an, daß das von mir experimentell erhaltene Defizit für Kohlensäure von 0,35 g beim Spiritusversuch vom 2. Mai auf Verlust durch Verdunstung von Alkohol zurückzuführen ist, so wären

0,183 g C_2H_5OH vergast. Diese Menge entspräche einem Sauerstoffmehrverbrauch von 0,38 g. Mein Sauerstoffehler würde sich demnach auf — 0,13 g = — 0,13% reduzieren. Im Versuch vom 29. April ginge der Fehler auf — 0,56 g Sauerstoff zurück.

Schließlich steht mir noch eine Reihe von Respirationsversuchen mit Säuglingen zur Verfügung, bei deren Ausführung ich die Tensionsverhältnisse bereits berücksichtigt habe. Der Kürze wegen gebe ich nur drei dieser Versuche wieder; sie mögen genügen, die Notwendigkeit der Dampftensionsberücksichtigung zu demonstrieren. Wie bei den Eichungsversuchen habe ich zwei Reihen von Berechnungen ausgeführt und die Bezeichnung der einzelnen Versuchsprotokolle so vorgenommen, daß die mit ungeraden Zahlen versehenen Protokolle 7, 9 und 11 diejenigen Werte aufweisen, bei denen die Volumina unter Annahme der für die herrschende Temperatur geltenden Maximaltensionen berechnet sind. Den mit den geraden Zahlen 8, 10 und 12 bezeichneten Protokollen liegt die Berechnung der Volumina unter Berücksichtigung der durch das Hygrometer bestimmten Partialtensionen zugrunde. Von einer Berechnung der Volumina unter Hinweglassung des Thermobarometers habe ich bei diesen Versuchen Abstand genommen, da das Thermobarometer, wie ich durch einige Orientierungsberechnungen festgestellt habe, bessere Mittelwerte für die Temperatur liefert, als das der Wandung des Respirationskastens anliegende Thermometer. Es war von vornherein zu erwarten, daß bei Respirationsversuchen größere Abweichungen auftreten werden, da hier verschiedene schädlich einwirkende Faktoren mitspielen, die bei Spiritusversuchen gänzlich wegfallen. Immerhin beweisen auch diese Versuche deutlich die Notwendigkeit der exakten Wasserdampfbestimmung zur Volumberechnung. Da bei Berücksichtigung der Wasserdampftension außer der Verringerung des Stickstoffehlers eine Änderung des Sauerstoffverbrauchs im positiven Sinne eintritt, erfährt auch der respiratorische Quotient eine oft nicht unwesentliche Erniedrigung.

Protokoll 7.

Versuch vom 21. Januar 1910.

Versuchsobjekt: Niesman, Wilhelmine.

Gewicht des Kindes: vorher	nachher	Dauer des Versuches:
5440 g	5400 g	3 Std.

Ernährung: Hunger.

	Temperatur	Bar. corr.	Manometer	Thermobar.
Anfangswerte:	21,9°	748,1	+ 0,17	— 0,10
Endwerte:	20,7°	748,9	+ 3,62	— 3,41

Anfangswert:

Hygrom. 100 bei 21,9° C; $p_w = 19{,}5$.

Endwert:

Hygrom. 100 bei 21,9° C; $p_w = 19{,}5$.

Anfangsvolum:	209,115 l	bei	21,9° C	und	728,87 mm Hg	= 185,625 l.
Endvolum:	208,865 l	„	21,9° C	„	735,63 „	„ = 187,142 l.

Analysen:		
der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
$CO_2 = 0{,}07\%$	$0{,}22\%$	$CO_2 = 0{,}09\%$
$O_2 = 20{,}86$ „	$20{,}04$ „	$O_2 = 98{,}01$ „
$N_2 = 79{,}07$ „	$79{,}74$ „	$N_2 = 1{,}90$ „
$100{,}00\%$	$100{,}00\%$	$100{,}00\%$

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 38,721 l.
Nachher „ . . . . . = 37,504 l.
1,217 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,158 kg, bei 20,6° C und 748,2 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 12,863 kg, bei 20,6° C und 748,9 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 7,765 l, bei 0° C und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,148 l,
„ „ CO_2 in O_2 = 0,007 l,
Dazu . . . . . = 1,217 l,

Netto-Sauerstoffverbrauch = 8,827 l.
Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,541 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,130 l.
Nachher „ . . . . . = 0,412 l.
0,282 l.

Aus Lauge . . . . . = 6,968 l CO_2.
Gesamt-Kohlensäureproduktion . . . = 7,250 l CO_2.
Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,442 l.
Respirator. Quotient: = 0,821.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 146,773 l. N_2 aus O_2 (1,90%) = 0,148 l.
Nachher „ . . . . = 149,228 l.
2,447 l.
Differenz = + 2,299 l.

Protokoll 8.

Versuch vom 21. Januar 1910.

Volumina berechnet unter Berücksichtigung der Wasserdampftensionen.

	Temperatur	Bar. corr.	Manometer	Thermobar.
Anfangswerte:	21,9°	748,1	+ 0,17	— 0,10
Endwerte:	20,7°	748,9	+ 3,62	— 3,41

Anfangswert:

Hygrom. 50 bei 21,9° C; $p_w = 9{,}75$.

Endwert:

Hygrom. 100 bei 21,9° C; $p_w = 19{,}50$.

Anfangsvolum: 209,115 l bei 21,9° C und 738,62 mm Hg = 188,109 l.
Endvolum: 208,865 l „ 21,9° C „ 735,63 „ „ = 187,142 l.

Analysen:

der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:

wie Protokoll 7.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,239 l.
Nachher „ . . . . . = 37,504 l.
1,735 l.
Dazu aus Gasometer . . . . . = 7,610 l.
Netto-Sauerstoffverbrauch = 9,345 l.

Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,572 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,132 l.
Nachher „ . . . . . = 0,413 l.
0,281 l.
Aus Lauge . . . . . = 6,968 l CO_2.
Gesamt-Kohlensäureproduktion . . . = 7,249 l CO_2.

Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,444 l;

Respirator. Quotient: = 0,77.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 148,738 l. N_2 aus O_2 (1,90%) = 0,148 l
Nachher „ . . . . = 149,228 l.
0,490 l.
Differenz = + 0,342 l.

Protokoll 9.

Versuch vom 4. Februar 1910.

Versuchsobjekt: Niesmann, Wilhelmine.

Gewicht des Kindes: vorher 5340 g, nachher 5300 g. Dauer des Versuches: 3 Std.

	Temperatur	Barr. corr.	Manometer	Thermobar.
Anfangswerte:	20,6°	749,7	+ 0,10	— 0,03
Endwerte:	20,6°	752,7	+ 3,89	— 1,69

Anfangswert:

Hygrom. 100 bei 20,6° C; $p_w = 18{,}10$.

Endwert:

Hygrom. 100 bei 20,6° C; $p_w = 18{,}10$.

Anfangsvolum: 209,230 l bei 20,6° C und 731,73 mm Hg = 187,286 l.
Endvolum: 209,230 l „ 20,6° C „ 737,18 „ „ = 188,681 l.

Analysen:

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,73%	CO_2 = 0,06%
O_2 = 20,86 „	19,55 „	O_2 = 97,80 „
N_2 = 79,07 „	79,72 „	N_2 = 2,14 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,067 l.
Nachher „ . . . . . = 36,887 l.
2,180 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,009 kg bei 20,6° C u. 749,6 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 12,291 kg bei 20,6° C u. 752,6 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 7,414 l bei 0° C u. 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,159 l.
„ „ CO_2 in O_2 = 0,004 l.
Dazu . . . . . = 2,180 l.

Netto-Sauerstoffverbrauch = 9,431 l.
Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,588 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,131 l.
Nachher „ . . . . . = 1,377 l.
1,246 l.

Aus Lauge . . . . . = 6,782 l CO_2.
Gesamt-Kohlensäureproduktion . . . = 8,028 l CO_2.
Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,501 l.
Respirator. Quotient: = 0,851.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 148,083 l. N_2 aus O_2 (2,14%) = 0,159 l.
Nachher „ . . . . = 150,417 l.
2,334 l.
Differenz = + 2,175 l.

Protokoll 10.

Versuch vom 4. Februar 1910.

Volumina berechnet unter Berücksichtigung der Wasserdampftensionen.

	Temperatur	Bar. corr.	Manometer	Thermobar.
Anfangswerte:	20,6°	749,7	+ 0,10	— 0,03
Endwerte:	20,6°	752,7	+ 3,89	— 1,69

Anfangswert:

Hygrom. 45 bei 20,6° C; p_w = 8,14.

Endwert:

Hygrom. 95 bei 29,6° C; p_w = 17,19.

Anfangsvolum: 209,230 l bei 20,6° C und 741,69 mm Hg = 189,836 l.
Endvolum: 209,230 l „ 20,6° C „ 738,09 „ „ = 188,918 l.

Analysen:

der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:
wie Protokoll 9.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	= 39,599 l.
Nachher „	= 36,934 l.
	2,665 l.
Dazu aus Gasometer	= 7,251 l.
Netto-Sauerstoffverbrauch	= 9,916 l.

Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,619 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden	= 0,133 l.
Nachher „	= 1,379 l.
	1,246 l.
Aus Lauge	= 6,782 l CO_2.
Gesamt-Kohlensäureproduktion . . .	= 8,028 l CO_2.

Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,501 l.

Respirator. Quotient: = 0,809.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 150,103 l. N_2 aus O_2 (2,14%) = 0,159 l.
Nachher „ . . . . = 150,606 l.
0,503 l.
Differenz = + 0,344 l.

Protokoll 11.

Versuch vom 30. März 1910.

Versuchsobjekt: Ramrath, Joseph.

Gewicht des Kindes: vorher	nachher	Dauer des Versuches:
7300 g	7300 g	3 Std.

	Temperatur	Bar. corr.	Manometer	Thermobar.
Anfangswerte:	20,8°	766,8	+ 0,12	— 0,10
Endwerte:	20,4°	767,8	— 0,05	— 0,17

Anfangswert:

Hygrom. 100 bei 20,8° C; p_w = 18,3.

Endwert:

Hygrom. 100 bei 20,8° C; p_w = 18,3.

Anfangsvolum: 207,00 l bei 20,8° C und 748,72 mm Hg = 189,465 l.
Endvolum: 207,00 l „ 20,8° C „ 748,62 „ „ = 189,440 l.

Analysen:

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,78%	CO_2 = 0,05%
O_2 = 20,86 „	18,73 „	O_2 = 97,63 „
N_2 = 79,07 „	80,49 „	N_2 = 2,32 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 39,522 l.
Nachher „ . . . . . = 35,482 l.
4,040 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,097 kg, bei 20,8° C u. 766,4 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 13,870 kg, bei 20,4° C u. 767,8 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 8,936 l, bei 0° C u. 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,207 l.
„ „ CO_2 in O_2 = 0,004 l.
Dazu . . . . . = 4,040 l.

Netto-Sauerstoffverbrauch = 12,764 l.
Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,583 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,133 l.
Nachher „ . . . . . = 1,478 l.
1,345 l.

Aus Lauge . . . . . = 8,532 l CO_2.
Gesamt-Kohlensäureproduktion . . . = 9,877 l CO_2.
Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,451 l.
Respirator. Quotient: = 0,77.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 149,810 l. N_2 aus O_2 (2,32%) = 0,207 l.
Nachher „ . . . . = 152,479 l.
2,669 l.
Differenz = + 2,462 l.

Protokoll 12.

Versuch vom 30. März 1910.

Volumina berechnet unter Berücksichtigung der Wasserdampftensionen.

	Temperatur	Bar. corr.	Manometer	Thermobar.
Anfangswerte:	20,8°	766,8	+ 0,12	— 0,10
Endwerte:	20,4°	767,8	— 0,05	— 6,17

Anfangswert:

Hygrom. 40 bei 20,8° C; p_w = 7,32.

Endwert:

Hygrom. 100 bei 20,8° C; p_w = 18,3.

Anfangsvolum: 207,00 l bei 20,8° C und 759,70 mm Hg = 192,243 l.
Endvolum: 207,00 l „ 20,8° C und 748,62 „ „ = 189,440 l.

Analysen:

der Anfangsluft: der Endluft: des Sauerstoffs:
wie Protokoll 11.

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 40,102 l.
Nachher „ . . . . . = 35,482 l.
4,620 l.
Dazu aus Gasometer . . . . . = 8,724 l.
Netto-Sauerstoffverbrauch = 13,344 l.
Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,609 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden . . . . . = 0,135 l.
Nachher „ . . . . . = 1,478 l.
1,343 l.
Aus Lauge . . . . . = 8,532 l CO_2.
Gesamt-Kohlensäureproduktion . . . = 9,875 l CO_2.
Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,451 l.
Respirator. Quotient: = 0,74.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . . = 152,006 l. N_2 aus O_2 (2,32 %) = 0,207 l.
Nachher „ . . . . = 152,479 l.
0,473 l.
Differenz = + 0,266 l.

Weitere Untersuchungen über das Wesen der Antitrypsinbildung im Organismus.

Von

A. Braunstein und L. Kepinow.

(Aus dem neuen Katharinen-Krankenhause in Moskau.)

(Eingegangen am 26. Mai 1910.)

Die bisherigen Untersuchungen über die Natur der antitryptischen Wirkung des Blutserums haben die Aufstellung einer ganzen Reihe von Vermutungen und Theorien veranlaßt.

Hahn[1]), Achalme[2]), Jochmann und Kantorowicz[3]) haben den Fermentcharakter des Antitrypsins durch seine Thermolabilität festgestellt; diese Eigenschaft wird aber von Döblin[4]) und J. Bauer[5]) bestritten. Ein weiterer Beweis für den Antikörpercharakter des Antitrypsins wurde durch die Möglichkeit, durch Injektionen von Trypsin eine Vermehrung des Antitrypsingehaltes im Serum zu erzielen, erbracht [Achalme[2]), Jochmann und Kantorowicz[3]), Bergmann und Bamberg[6]), Braunstein[7])]. Diese Möglichkeit wird wieder von Landsteiner[8]) und J. Bauer[5]) bestritten. Während O. Schwarz[9]) auf Grund seiner Untersuchungen das Antitrypsin für eine Lipoideiweißverbindung hält, findet Döblin[4]), das Antitrypsin sei weder ein Antiferment, noch ein Lipoid, sondern irgend eine andere kolloidale, nicht ätherlösliche Substanz. In einer vor kurzem erschienenen Arbeit kommt J. Bauer[5]) zum Schlusse, daß das Antitrypsin des normalen Harns nicht identisch zu sein scheint mit dem bei gewissen Krankheiten im Harn auftretenden „Antitrypsin", während dieses letztere wahrscheinlich mit dem Serumantitrypsin identisch ist. Bauer glaubt, daß das Antitrypsin keine einheitliche Substanz wäre, vielmehr sei seine antitryptische Wirkung auf verschiedene kolloidale Substanzen zurückzuführen. Während man auf

[1]) Hahn, Berl. klin. Wochenschr. 1897, 499.
[2]) Achalme, Annales de l'Inst. Pasteur 1901.
[3]) Jochmann und Kantorowicz, Zeitschr. f. klin. Med. 66, 1908.
[4]) Döblin, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 4, H. 1 bis 2, 1909.
[5]) Bauer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 5, H. 1 bis 2, 1910.
[6]) Bergmann und Bamberg, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 30.
[7]) Braunstein, Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 13.
[8]) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. 27, 357, 1909.
[9]) O. Schwarz, Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 33.

Grund zahlreicher Arbeiten die Antitrypsinvermehrung im Serum unter anderem auch als charakteristisch für Kachexie ansieht, so fehlt es auch nicht an Autoren [Poggenpohl[1]) und Klug[2])], welche die Antitrypsinvermehrung nicht als charakteristisch für Kachexie halten.

Die von uns ausgeführten Untersuchungen verfolgen nicht das Ziel, die bestehenden Widersprüche aufzuklären, sie sollen nur für die von Braunstein[3]) für die Antitrypsinbildung angegebene Erklärung einen weiteren Beweis liefern. Braunstein[4]) hat zuerst den experimentellen Nachweis erbracht, daß der Antitrypsingehalt des Serums durch den bei Tieren erzeugten Eiweißzerfall infolge Phlorizin- und Phosphoreinspritzungen beeinflußt werden kann. Ähnlich wie bei Krebskranken mit gesteigertem Eiweißzerfall fand er auch bei solchen Tieren einen vermehrten Antitrypsingehalt im Serum, und es wurde von ihm die Auffassung vertreten, daß der vermehrte Antitrypsingehalt im Blute von toxogenem Eiweißzerfall im Organismus abhängig ist und durch die Resorption der dabei frei werdenden intracellulären proteolytischen Fermente, die als Antigen zur Antitrypsinbildung führen, erklärt werden kann.

Außer Krebskranken untersuchte Braunstein eine Anzahl von anderen Kranken, die einen gesteigerten Eiweißzerfall aufwiesen, und fand, daß bei Kranken mit Morbus Basedowi, mit schwerer Phenacetinvergiftung, mit Myxödem während der Thyreoidinbehandlung der Antitrypsingehalt des Serums vom Eiweißzerfall abhängig ist. Der gesteigerte Eiweißzerfall wurde bei diesen Kranken durch parallele Stickstoffbestimmung des Harns konstatiert und entsprach der Steigerung der antitryptischen Serumwirkung. Auf Grund seiner experimentellen und klinischen Untersuchungen kommt Braunstein zum Schlusse, daß ebenso wie bei der Autolyse beim Zugrundegehen der Zellen intracelluläre, proteolytische resp. autolytische Fermente zutage treten, es auch möglich ist, daß im lebenden Körper bei intensivem Zellzerfall dieselben proteolytischen intracellulären Fermente frei werden und nach ihrer Resorption ins Blut das Auftreten von vermehrtem Antiferment hervorrufen.

[1]) Poggenpohl, Arch. de Med. experim. et d'Anat. pathol. 21. Nr. 6, 1909.

[2]) Klug, Berl. klin. Wochenschr. 1909, 50.

[3]) Braunstein, Medizinskoje Obosrenie 1909, Nr. 11. (Russisch.)

[4]) Braunstein, Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 11.

Um noch einen weiteren Beweis für diese Auffassung zu bringen, haben wir Versuche angestellt, die einen direkten Beweis dafür liefern sollten, daß bei der Autolyse im tierischen Organismus eine Steigerung des Antitrypsingehalts im Blutserum ermöglicht ist. Wir spritzten Meerschweinchen resp. Kaninchen in die Bauchhöhle frisch und steril von Meerschweinchen resp. Kaninchen entnommenen Leberbrei und untersuchten bei den gespritzten Tieren den Antitrypsingehalt vor und nach der Einspritzung. Ähnliche Versuche machten wir auch mit Carcinomgewebe, das bekanntlich noch viel schneller der Autolyse unterworfen ist.

Um den Fermentcharakter resp. die Autolyse der eingespritzten Gewebe (Leberbrei und Carcinom) auszuschalten, haben wir parallele Versuche mit gekochtem Leber- und Carcinombrei angestellt.

Nr. des Versuchs	Versuchstier	Antitrypsingehalt des Serums[1])				
		Vor der Einspritzung	Nach der Einspritzung in das Peritoneum am			
			2. Tage	3. Tage	4. Tage	5. Tage
1.	Meerschweinchen A bekam 10 ccm Leberbrei	100		200		100
2.	Meerschweinchen B bekam 6 ccm Carcinombrei	150		220		
3.	Kaninchen A bekam 10 ccm Leberbrei	40	80		120	86
4.	Kaninchen B bekam 12 ccm Leberbrei	75	166	125		100
5.	Kaninchen C bekam 12 ccm Leberbrei	40	60	80	60	42
6.	Kaninchen D bekam 12 ccm Leberbrei, $^1/_4$ Stunde gekocht	60	60	60	50	60
7.	Kaninchen E bekam 12 ccm Leberbrei, $^1/_4$ Stunde gekocht	60	60	60	60	57
8.	Kaninchen F bekam 10 ccm Carcinombrei, $^1/_4$ Stunde gekocht	60	57	60		60

[1]) Der Antitrypsingehalt wurde nach der Groß-Fuldschen Caseinmethode bestimmt und nach Jacobs Index ausgerechnet (Jacobs Index $i = (a_1 - a)\frac{100}{a}$, wo a die total verdauende Trypsindosis, a_1 die Trypsinmenge, bei der nach Serumzusatz noch eine deutliche Färbung auftritt, bezeichnet wird).

Wie aus den Versuchen 1 bis 5 hervorgeht, haben die intraperitonealen Einspritzungen von Leberbrei resp. Carcinombrei bei Tieren den Antitrypsingehalt des Blutserums in stark ausgesprochener Weise (bis auf das 3fache) vermehrt. Wurde derselbe Leber- oder Carcinombrei vor der Einspritzung $^1/_4$ Stunde lang gekocht, so blieb die Antitrypsinvermehrung bei den Tieren aus (Versuch 6 bis 8). Durch diese Versuche ist der Fermentcharakter der Antitrypsinbildung festgestellt.

Wenn es noch keineswegs erwiesen ist, daß die autolytischen Prozesse eine einfache Fortsetzung der Lebensvorgänge darstellen, so ist es doch nicht auszuschließen, daß sie als Ausdruck vitaler Vorgänge aufzufassen sind, um so mehr als eine Autolyse im lebenden Körper unter pathologischen Bedingungen erkennbar gemacht und sogar nachgewiesen worden ist. Es liegt deshalb nahe genug, den autolytischen Vorgang, wie er sich in den herausgeschnittenen Organen abspielt, auch auf die lebenden blutdurchströmten Organe zu übertragen. Außerdem ist ein antitryptischer Einfluß des Serums auf die Autolyse schon längst bekannt: das Antitrypsin vermag auch die Tätigkeit der autolytischen Fermente zu hemmen.

Unsere Experimente mit Autolyse im lebenden Tierkörper sind ganz dazu angetan, die von einem (Braunstein) von uns zuerst ausgesprochene Auffassung nicht nur aufrecht zu erhalten, sondern auch zu bestätigen. Das Wesen und die Ursache der vermehrten Antitrypsinbildung im Blutserum können also auf Zellzerfall mit Freiwerden intracellulärer proteolytischer resp. autolytischer Fermente zurückgeführt werden.

Über den Neutralschwefel des Harnes und seine Beziehungen zur Diazoreaktion sowie zur Ausscheidung der Proteinsäuren.

Von

Moriz Weiß.

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Professors Dr. Otto v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 5. Juni 1910.)

I. Einleitung.

In früheren Arbeiten[1]) habe ich zu zeigen versucht, daß die Ursache der Ehrlichschen Diazoreaktion zum normalen gelben Harnfarbstoff, dem Urochrom Thudichums und Garrods, im Verhältnisse eines Chromogens zu stehen scheine. Ich habe schon damals die mangelhafte chemische Charakterisierung des Urochroms betont. Seitdem ist durch die Arbeiten von Bondzynski, Dombrowski und Panek[2])[4]) die Beziehung des Urochroms zu jener Gruppe von Substanzen, die unter dem Sammelbegriffe der „Proteinsäuren" zusammengefaßt werden, wahrscheinlich geworden. Andererseits liegt auch eine Reihe von Beobachtungen vor, die auf eine Beziehung der Ehrlichschen Diazoreaktion zu den letztgenannten Substanzen hinweisen.

So wurde die von Bondzynski und Gottlieb[3]) entdeckte Oxyproteinsäure als Ursache der Diazoreaktion von Bond-

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1907, Nr. 31 und Beiträge z. Klin. d. Tuberk. 8, 177, 1907.

[2]) Bondzynski, Dombrowski und Panek, Zeitschr. f. phys. Chem. 54, 83, 1905.

[3]) Centralbl. f. med. Wiss. 1897, Nr. 33.

[4]) Dombrowski, Zeitschr. f. phys. Chem. 54, 188, 1907/08 und Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 145, 575, 1907.

zynski und Panek[1]) angesprochen. Als später von der Oxyproteinsäure noch die All- und Antoxyproteinsäure abgetrennt wurde, haben Bondzynski, Dombrowski und Panek darauf hingewiesen, daß die Antoxyproteinsäure die Diazoreaktion gebe, sich jedoch nicht mit Sicherheit darüber ausgesprochen, ob dieselbe auch die in pathologischen Zuständen beobachtete Diazoreaktion bewirke. Ginsberg[2]) bestätigt die Angaben bezüglich der Antoxyproteinsäure, spricht sich jedoch über die Frage, ob dieselbe das Prinzip der Ehrlichschen Diazoreaktion sei, mit noch größerer Reserve aus.

In meiner gegenwärtigen Arbeit habe ich es mir zur Aufgabe gemacht, zu dieser Frage von einem anderen Gesichtspunkte aus einen Beitrag zu liefern.

Mit der Entdeckung der Proteinsäuren war ja die Natur des organischen Harnschwefels im wesentlichen klargestellt, und man durfte erwarten, daß mit der Steigerung der Ausscheidung der Proteinsäuren auch der Neutralschwefel vermehrt auftreten würde. Nun besitzen wir aber in der von P. Ehrlich selbst aufgestellten Skala der Diazoreaktion ein, wenn auch nicht ganz sicheres, doch praktisch gut brauchbares Maß für die Intensität derselben. Es war daher, die Proteinsäurenatur des Prinzips der Diazoreaktion vorausgesetzt, zu erwarten, daß auch der Neutralschwefel in den Fällen stärkerer Reaktion vermehrt ausgeschieden würde. Diese Voraussetzung hat sich bestätigt. Die Harne mit positiver Diazoreaktion zeigten im Durchschnitt gegenüber solchen mit negativer Diazoreaktion sowohl absolut als auch relativ (im Prozentverhältnis des Neutralschwefels zum Gesamtschwefel des Harnes) höhere Werte.

Die Beschäftigung mit dieser Frage machte es notwendig, auch die normale Ausscheidung des Neutral-S einer Untersuchung zu unterziehen, um für die Beurteilung der pathologischen Werte ein Maß zu gewinnen. Zum Verständnis der Neutral-S-Ausscheidung mußten ferner seine Beziehungen zum quantitativen und qualitativen Eiweißzerfall in Betracht gezogen werden, und so ergaben sich im Verlaufe meiner Arbeit eine Reihe von Gesichtspunkten, die auf den

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 2959, 1903.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 411, 1907.

Neutral-S resp. auf die Gruppe der ihn zusammensetzenden Körper einiges Licht zu werfen geeignet sein dürften.

Was die angewandte Methode betrifft, erfolgte die Neutralschwefelbestimmung nach der von Folin[1]) modifizierten Asbothschen Natriumsuperoxydmethode.

Ursprünglich wurde die Neutralschwefelbestimmung mit dem von Heß[2]) angegebenen Verfahren vorgenommen, dasselbe aber alsbald wieder verlassen. Da diese Methode den Anspruch erhebt, größere Genauigkeit als alle bisherigen Methoden zu bieten, so sei mit einigen Worten auf dieselbe eingegangen. Heß erhält bei dieser Methode für die Norm nur ungefähr den zehnten Teil der sonst von anderen Autoren gefundenen Neutralschwefelwerte; trotzdem glaubt er, daß seine Werte richtig, die Werte der früheren Untersucher aber infolge von Salzeinschlüssen im Bariumsulfat viel zu hohe seien. Das Verfahren von Heß beruht auf der irrigen Voraussetzung, daß durch Einleiten von Chlor (und zwar bis zur eintretenden Farblosigkeit) in einen von den schwefelsauren Salzen und von der Ätherschwefelsäure nach dem Kochen mit HCl durch $BaCl_2$ befreiten Harn sämtlicher organischer Schwefel in die oxydierte Form übergehe. Daß vom Neutralschwefel nur ein kleiner Teil durch Chlor und Brom oxydierbar sei, hat bereits Lépine[3]) hervorgehoben, der im Neutral-S einen leicht und einen schwer oxydierbaren Anteil unterschied. Nach Stadthagen[4]) beträgt der leicht oxydierbare Anteil etwa $^1/_5$ des Neutral-S. Nachdem ich mit dem Verfahren von Heß 15 Bestimmungen vorgenommen hatte, ohne irgend ein brauchbares Resultat und übereinstimmende Parallelbestimmungen zu erzielen, nachdem schließlich jene Menge Schwefel, die sich als Differenz zwischen dem durch die Na_2O_2-Methode und dem durch die Methode von Heß gewonnenen Werte ergeben hatte, im Filtrate nach reichlicher Chloreinleitung noch mittels der Na_2O_2-Methode nachgewiesen werden konnte, wurde das Verfahren als unbrauchbar verlassen.

Alle von mir später vorgenommenen Schwefelbestimmungen wurden nach dem von Folin modifizierten Asbothschen Verfahren vorgenommen. Diese [im Handbuche der Biochemie von Oppenheimer[5]) genau beschriebene] Methode liegt allen meinen Werten zugrunde.

Parallelbestimmungen mit diesem Verfahren ergaben Werte, die in der Regel auf 2% miteinander übereinstimmten, eine Genauigkeit, die der von Folin erreichten von 1% nahesteht.

---

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 1, 136, 1905/06.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, 1452.

[3]) Nach Neubauer und Vogel, Harnanalyse, 1898, S. 16 und Lépine und Flavard, Compt. rend. 91, 1074, 1886.

[4]) Virchows Archiv 100, 426, 1885.

[5]) Jena 1910, Band III, S. 556.

Einige Parallelwerte mögen die Brauchbarkeit der Methode illustrieren:

Schwefelsäure und Ätherschwefelsäure (= saurer S) in 25 ccm Harn als $BaSO_4$: a) 0,2138, b) 0,2143, c) 0,2149.

Gesamt-S in 25 ccm Harn als $BaSO_4$:

Tabelle I Nr. 2 a) 0,1983 b) 0,2007
„ V „ 6 a) 0,2149 b) 0,2183
„ I „ 10 a) 0,1441 b) 0,1471
„ I „ 12 a) 0,1357 b) 0,1398
„ V „ 14 a) 0,1391 b) 0,1433
„ V „ 29 a) 0,1760 b) 0,1787

$BaSO_4$ der Barytfraktion von Tabelle V Nr. 26, 25 ccm Harn entsprechend: a) 0,0577, b) 0,0587, c) Neutral-$BaSO_4$ 0,0566.

II. Neutralschwefelausscheidung unter normalen Verhältnissen.

Ich teile nunmehr die von mir gewonnenen Resultate in tabellarischer Form mit, um an der Hand derselben zunächst die Neutralschwefelausscheidung unter normalen Verhältnissen zu diskutieren.

Tabelle I.

Die Neutralschwefelausscheidung im Harne normaler Menschen.

Provenienz des Harnes	Datum 1909	Tagesmenge ccm	Diazo-Reaktion	Schwefel in der Tagesmenge als S			Neutral-S in % vom Total-S	Anmerkung
				Total	Sauer	Neutral		
1. Ges. Mann, 33 J.	20. Nov.	915	neg.	0,9669	0,7789	0,1880	19,4	Selbstversuch
2. „ „ „	15. Dez.	1050	„	a) 1,1436 b) 1,1539	0,9827	0,1609 0,1712	14,0 14,8	
3. „ „ „	29. „	1125	„	1,1746	0,9750	0,1996	16,9	
4. „ „ „ Mischung v. 5 Tagen	8. bis 13. Feb.	754	„	0,9784	0,7896	0,1888	19,3	
5. Mischung der Harne von 3 gesund. Männern, 28, 33 u. 40 Jahre	12. Jan.	1166	„	a) 1,1271 b) 1,1443	0,9017	0,2264 0,2426	20,0 21,2	
6. Ges. Mann, 24 J.	1. Dez.	1300	„	0,5883	0,5205	0,0678	11,5	
7. „ „ „	15. „	1300	„	0,5255	0,4227	0,1028	19,5	
8. „ „ 22 J.	16. „	1200	„	0,9582	0,8364	0,1218	12,7	
9. „ „ „	20. „	1400	„	0,8689	0,7546	0,1143	14,2	
10. „ „ „	23. „	1000	„	a) 0,7914 b) 0,8079	0,6821	0,1093 0,1258	13,8 15,5	
11. „ „ 25 J.	20. „	1400	„	0,9934	0,8319	0,1615	16,2	
12. „ „ 27 J.	30. „	1390	„	a) 1,036 b) 1,067	0,8436 0,8474	0,1924 0,2199	18,5 20,6	

Durchschnittswert.

Diazo-Reaktion	Zahl der Bestimmungen	Gesamt-S	Neutral-S	Neutral-S in % vom Gesamt-S
neg.	12	0,9436	0,1557	16,5

Als mittlere tägliche Neutral-S-Ausscheidung ergibt sich für die Norm bei gemischter Kost beim Erwachsenen aus meinen Werten 0,1557 g S, was 16,5% des Gesamt-S entspricht. Wollen wir damit die Werte anderer Autoren vergleichen, so dürfen wir nicht unerwähnt lassen, daß sich aus der Verschiedenheit der Methodik Differenzen ergeben haben, die an der Möglichkeit, einen Standardwert für den Neutral-S aufzustellen, lange zweifeln ließen. Die Schwierigkeit, einen solchen Wert aufzustellen, hatte auch darin ihren Grund, daß die Neutral-S-Ausscheidung individuellen Schwankungen unterworfen zu sein schien. Ich werde später die Gesetze, von denen die Neutral-S-Ausscheidung abhängig ist, so weit sie unserer Kenntnis zugänglich sind, zu erörtern versuchen.

Im Interesse einer einheitlichen Betrachtung teile ich die in der Literatur für die Norm angegebenen Werte in solche, die nach der früher üblichen Methode — Schmelzen mit Soda und Salpeter — gewonnen wurden und in solche, die mit dem in der letzten Zeit namentlich von Folin erprobten Asboth-schen Verfahren erhalten worden sind.

Tabelle II A.

Neutral-S-Ausscheidung bei gemischter Kost (ältere Methodik nach Salkowski).

Name des Autors	Neutral-S	Neutral-S in % vom Gesamt-S	Anmerkung
Salkowski	0,157	16,3	
Benedict			
1. Mittel von 13 Tagen	0,220	16,6	Selbstversuch
2 „ „ 9 „	0,200	14,1	
Schmidt	—	20,0	Maximalwert
Kast und Mester	—	16,6	
Reale und Velardi	0,338	27,1	
Lépine und Flavard	—	20,0	Maximalwert
Stadthagen	—	13,3—14,5	
Beck und Benedict	—	16,6	
Heffter	—	24,3—26,9	
Harnack und Kleine	—	19—24	

Wenn wir diese Zahlen der älteren Periode betrachten, so sehen wir, daß sie mitunter sehr nennenswerte Abweichungen untereinander zeigen, und daß einzelne Werte hoch über meinen früher ermittelten Normalzahlen stehen, daß dagegen andere mit diesen Werten gut übereinstimmen. Die Ursache dieser Erscheinung kann man mit Benedict[1]) und Folin[2]) in der Verschiedenheit der angewandten Technik sehen. So machen Reales und Velardis[3]) sowie Heffters[4]) Durchschnittszahlen unbedingt den Eindruck, daß sie zu hoch sind, während Salkowskis[5]), Benedicts, Beck und Benedicts[6]), Kast und Mesters[7]) und Stadthagens[8]) Werte nicht nur untereinander, sondern auch mit meinen Durchschnittszahlen und mit den noch später anzuführenden Zahlen anderer Autoren gut übereinstimmen. Auch Schmidts[9]), Lépine und Flavards[10]) Zahlen stehen den von mir ermittelten nahe. Was die absoluten Werte betrifft, so ist die mittlere Tagesausscheidung eines Erwachsenen von 0,157 g S bei Salkowski von der von mir eruierten Mittelzahl wenig verschieden, während Benedicts in Selbstversuchen gewonnene Neutral-S-Zahl von 0,210 im Mittel den von mir in Selbstversuchen ermittelten Einzelzahlen nahesteht.

Tabelle II B.

Neutral-S-Ausscheidung bei gemischter Kost.
(Neuere Methodik nach Folin.)

Name des Autors	Gesamt-S	Saurer S	Neutral-S	%
Shaffer . .	1,0550	0,8230	0,1560	14,8
Gawinski .	0,7316	0,6549	0,0767	10,4
„ .	1,0640	0,9107	0,1533	14,4

Die Zahl der mit der Na_2O_2-Methode bei gemischter Kost und gesundenen erwachsenen Individuen durchgeführten Bestimmungen des Neutral-S ist bisher nicht groß. Als Mittelzahl aus Shaffers[11]), Gawinskis[12]) und meinen Bestimmungen

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 36, 281, 1899.

[2]) l. c.

[3]) Verhdl. d. internat. Kongr. in Rom 3, 319, 416, 1894.

[4]) Pflügers Archiv 38, 476, 1886.

[5]) Virchows Archiv 58, 172, 1873; Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 241, 1885.

[6]) l. c.; Beck und Benedict, 54, 27, 1893.

[7]) Zeitschr. f. klin. Med. 18, 469, 1891.

[8]) l. c.

[9]) Zeitschr. f. klin. Med. 34, 218, 1898.

[10]) l. c.

[11]) Journ. of Physiol. 22, 445, 1908.

[12]) Zeitschr. f. phys. Chem. 58, 454, 1909.

ergibt sich für normale erwachsene Individuen bei gemischter Kost:

Gesamt-S	Neutral-S	%
0,9443	0,1421	14,8

Diese Werte dürften nach den bisherigen Bestimmungen ungefähr einem gesunden Erwachsenen bei einer gewöhnlichen Kost im Mittel zukommen.

Im Anschluß daran möchte ich den Einfluß anderer Kostarten als der gewöhnlichen Durchschnittskost auf die Neutral-S-Ausscheidung hervorheben. Ich stelle eine Reihe einschlägiger Daten tabellarisch zusammen.

Autor	Versuchsobjekt	Gesamt-S	Neutral-S	Vom Gesamt-S entfallen auf Neutral-S %	Gesamt-N	Art der Ernährung
Heffter[1])	Mensch	1,80	0,320	16,5		Fleischnahrung
„	„	1,10	0,190	17,1		Milchnahrung
„	„	0,72	0,190	26,1		Gemischte Nahrung
„	„	0,64	0,210	33,1		Brotnahrung
„	Hund	0,99	0,280	28		Fleischnahrung
„	„	0,34	0,140	41,5		Brotnahrung
„	„	1,90	0,35	17,8		Kleberfütterung
Shaffer[2])	Mensch		0,120	9,3	16,73	Gemischte Nahrung
„	„		0,070	20,6	4,88	N-arme Kost
„	„		0,150	22,2	9,50	Gemischte Nahrung
„	„		0,124	28,3	4,77	N-arme Kost
„	„		0,110	25,9	4,40	„ „
„	„		0,100	24,2	3,94	„ „
„	„		0,156	14,8	14,90	Gemischte Kost
„	„		0,138	15,7	11,02	„ „
Gawinski	„	1,064	0,1533	14,4		„ „
„	„	1,598	0,1968	12,3		Fleischdiät
„	„	0,9965	0,046	4,6		Milchdiät
Shaffer-Folin	„	1,40	0,102	7,3		Gemischte Diät, fleischfrei
Benedict[3])	„		0,210	15,3		Gemischte Kost
„	„		0,115	5,4		„ „ mit reichlicher Fettzulage
Heffter	Hund	0,99	0,280	28		Fleischnahrung
„	„	1,235	0,160	13		„ mit reichlicher Fettzulage
Fr. Müller[4])	Mensch	1,35	0,220	17	15,88	Milchdiät
„	„	1,53	0,275	17,6	17,18	Fleischdiät

[1]) l. c.

[2]) Journ. of Physiol. 17, 362, 1906/07.

[3]) l. c.

[4]) Zeitschr. f. klin. Med. 12, 45, 1887.

Wir erkennen aus den angeführten Zahlen dreierlei: 1. das bereits von Benedict konstatierte prozentuale Ansteigen des Neutral-S bei niedrigem Eiweißumsatz, 2. den Einfluß der Höhe des Eiweißumsatzes auf die absoluten Werte des Neutral-S., 3. daß die Höhe des absoluten Neutralschwefelwertes auch von der Art der Nahrung abhängig ist.

III. Neutral-S-Ausscheidung im Hungerzustande.

Wir können den angeführten Bestimmungen entnehmen, daß wir im Neutral-S einen aus dem Nahrungseiweiß stammenden exogenen Anteil unterscheiden müssen, der bei reiner Fleischnahrung anscheinend am größten ist.

Den anderen Anteil des Neutral-S finden wir deutlich in den Hungerversuchen ausgeprägt. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Organismus auch bei vollständiger Unterbrechung der Nahrungszufuhr einen Teil seines S in Form von Neutral-S ausscheidet. Dieser Anteil kann nur aus dem Organeiweiß stammen. Ich nenne ihn den endogenen Teil des Neutral-S.

Die Hungerstoffwechselversuche betreffen meist professionelle Hungerkünstler. Friedrich Müller[1]) fand bei Cetti absolute und relative Vermehrung des Neutral-S, Luciani[2]) an Succi dasselbe. Munk[3]) machte bei einer hungernden Katze, Hefftor bei einem hungernden Hunde ganz analoge Beobachtungen.

Eine auf 21 Tage sich erstreckende Stoffwechseluntersuchung an Cetti rührt von E. und O. Freund[4]) her. Schon am 2. Hungertage trat entsprechend dem starken Absinken des Gesamt-S ein Ansteigen des Prozentwertes des Neutral-S auf, während der absolute Wert am 2., ebenso am 3. Tage gleich blieb. Vom 4. bis 7. Tage finden wir einen Anstieg des absoluten Neutral-S-Wertes auf das Doppelte der ersten 3 Tage und dementsprechend auch einen starken prozentualen Anstieg. Vom 11. Tage an sehen wir ungefähr wieder die absoluten Werte der ersten Tage mit sehr hohem Prozentwerte, entsprechend dem außerordentlich niedrigen Gesamt-S-Wert.

In dem Versuche von Cathcart und Fawsitt[5]) am Hungerkünstler Beauté finden wir während der Hungerperiode recht konstante

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1887, 433.
[2]) Nach Benedict zit.
[3]) Nach Neubauer und Vogel.
[4]) Wiener klin. Rundschau 1901, 69 u. 91.
[5]) Journ. of Physiol. 35, 500, 1908.

Neutral-S-Werte, die absolut etwas niedriger sind als in der Vorperiode, relativ zum Gesamt-S höher sind. Es wurden von Beauté ausgeschieden im Durchschnitt während einer

	Neutral-S	%
3tägigen Vorperiode, in der die Nahrung aus Milch und Eiern bestand	0,156	14,8
während des Fastens im Durchschnitt von 14 Tagen	0,113	16,8
im Anschluß an das Fasten in 3 Tagen, wo eine Stärkemehl- und Rahmkost mit sehr niedrigem Stickstoffgehalt genommen wurde	0,101	31,3
in einer 2tägigen Nachperiode bei einer Kost von Eiern und Milch	0,158	16,9

Cathcart und Fawsitts Werte sind bereits mit der von Folin modifizierten Na_2O_2-Methode gewonnen. Als Ergebnis dieses Hungerversuches möchte ich hervorheben, daß der Neutral-S-Wert hier nicht wie bei Succi und Cetti gesteigert ist, er ist vielmehr gegenüber der Norm deutlich herabgesetzt, dagegen sein Prozentwert etwas, aber nicht bedeutend gesteigert. Die für Hungerkünstler gewonnenen Resultate sind nicht ohne weiteres zu verallgemeinern; denn bei diesen handelt es sich ja um eine Art Training der Körperzellen.

Daß die Inanition bei Kranken sich schon anders verhält, geht aus Tuczeks[1]) Werten bei abstinenten Geisteskranken hervor. Ein abstinenter Geisteskranker Tuczeks schied aus

	N	Gesamt-S	Neutral-S	%
vom 15. bis 22. Tage seiner Karenz im Mittel	4,26	0,266	0,177	66,6
ein anderer bei 25täg. Karenz im Mittel vom 9. bis 25. Tage	4,30	0,269	0,187	70,0

Die absoluten Werte für den Neutral-S sind hier nicht hoch über der Norm, dagegen die relativen ganz bedeutend.

Aus diesen Hungerversuchen ergibt sich, daß im Hunger der Prozentwert des Neutral-S immer höher, sein absoluter Wert dagegen erhöht oder auch vermindert sein kann. Die im Hunger erhaltenen Neutral-S-Werte sind naturgemäß immer endogenen Ursprungs.

Um uns eine Vorstellung von dem endogenen Neutral-S-Werte zu machen, betrachten wir die bei der einheitlichen Kost Folins bei verschiedenen Stickstoffwerten gewonnenen Zahlen, bei denen immer Stickstoffgleichgewicht erzielt wurde.

---

[1]) Nach Benedict zit. Der Neutral-S von Benedict berechnet.

Patient N. H. G. schied aus

bei N-Gehalt der Nahrung	Neutral-S	Mittel aus
13,7	0,1348	4 Tagen
4,7	0,0868	13 „

Gewicht bei Beginn des Versuches 64,0 kg, ebensoviel am Ende desselben.

Patient N. H. F. schied aus

bei N-Gehalt der Nahrung	Neutral-S	Mittel aus
18,1	0,1328	5 Tagen
6,28	0,084	8 „

Gewicht bei Beginn des Versuches 59,1, am Ende desselben 58,3 kg. In beiden Fällen wurde also die Reduktion der Kost gut vertragen und waren bei einem ungefähr der Norm entsprechenden Stickstoffgehalt der Nahrung auch normale Neutral-S-Werte vorhanden. Im ersten Falle blieb das Gewicht ganz gleich, im zweiten Falle verminderte es sich bloß um 0,8 kg in 13 Tagen. Die Verminderung der N-Zufuhr bei N. H. G. von 13,7 auf 4,7 betrug 9,0 N. Gleichzeitig verminderte sich der Neutral-S um 0,048 g, d. h. 9 g Stickstoff entsprachen in diesem Falle 0,048 g S oder 1 g N 0,0053 S. Die Neutral-S-Ausscheidung bei 4,7 N betrug 0,0868. In diesem Werte ist ein der Nahrungszufuhr entsprechender exogener und ein der Zersetzung des Körpereiweiß entsprechender endogener Anteil enthalten. Um nun den letzteren zu berechnen, müssen wir beim ersten Fall von 0,0868 so viel Neutral-S abziehen, als dem Stickstoffwerte von 4,7 g entspricht. Dies sind $4{,}7 \times 0{,}0053 = 0{,}0249$ oder rund 0,025 S. Wir erhalten also als endogenen Neutral-S-Wert $0{,}0868 - 0{,}025 = 0{,}0618$ g S.

In derselben Weise berechnet sich aus dem zweiten Versuche bei N. H. F. der endogene Neutral-S-Wert auf 0,573.

Nehmen wir das Mittel beider Werte so erhalten wir als ungefähren endogenen Neutral-S-Wert 0,0595 oder rund 0,060 g S.

Da wir früher für den erwachsenen normalen Menschen bei gemischter Kost als Neutral-S-Wert im Durchschnitt 0,1421 konstatiert haben, so würde sich, die Richtigkeit obiger Rechnung vorausgesetzt, ergeben, daß die größere Hälfte des Neutral-S in diesem Falle als exogener, die kleinere Hälfte als endogener Anteil zu betrachten wäre.

IV. Neutral-S-Ausscheidung unter der Einwirkung von Giften.

Mit diesen aus der Betrachtung des Neutral-S in der Norm und im Hunger gewonnenen Ergebnissen will ich an die Beurteilung der Neutral-S-Ausscheidung unter dem Einflusse von Giften herangehen. Es ist eine durch vielfache Experimente an Tieren und durch Untersuchungen am Menschen festgestellte Tatsache, daß die Neutral-S-Ausscheidung unter dem Einfluß verschiedener Protoplasmagifte ansteigt. Dies wurde für das Chloroform von Vidal[1]), Rudenko[2]), Kast und Mester[3]), Saweliew[4]), Howland[5]), Benedict, für Phosphor und Arsen von Voirin und Lambert[6]), für Alkohol von Donogány und Tybald[7]), für Chloralhydrat von Harnack und Remertz[8]), für Blei von Lépine nachgewiesen.

Einige Werte mögen diese Verhältnisse illustrieren. Kast und Mester fanden folgende Werte beim Menschen:

Vor der Narkose	Nach der Narkose
16,6%	30,8%
14,9 „	23,2 „
12,4 „	20,0 „

Rudenko fand bei einem Hunde bei Einführung von Chloroformwasser in den Magen eine Steigerung des Neutral-S-Wertes von 17,1 bis 28%. Mit der gesteigerten Neutral-S-Ausfuhr ging auch gesteigerte N-Ausfuhr parallel. Saweliew konstatierte, daß von dem unter dem Einfluß des Chloroforms mehr ausgeschiedenen S nur 19% auf Schwefelsäure, der Rest dagegen auf Neutral-S entfällt. Benedict konstatierte in einem Falle von Chloroformvergiftung beim Tier, daß auf 0,110 g Zunahme des Gesamt-S auf Neutral-S 0,044, d. s. 40%, entfallen.

Es läßt sich also nicht bezweifeln, daß unter dem Einfluß von Protoplasmagiften eine Steigerung der Neutral-S-Ausscheidung stattfindet. Die Tatsache dieser Steigerung hat Saweliew zu der Annahme veranlaßt, daß das Nahrungseiweiß anders im Organismus abgebaut werde als das Körpereiweiß. Dieses liefere viel Neutral-S neben wenig Schwefelsäure, ersteres aber viel Schwefelsäure neben wenig Neutral-S.

---

[1]) Nach Howland zit.
[2]) Virchows Archiv 125, 102, 1891.
[3]) l. c.
[4]) Virchows Archiv 136, 195, 1894.
[5]) Proc. of the New York path. society 1909, 161.
[6]) Malys Jahresb. 26, 366, 1896.
[7]) Nach Benedict zit.
[8]) Fortschr. d. Med. 11, 265, 1893.

Betrachten wir einmal, wie sich dieser Schluß Saweliews im Lichte meiner zwischen exogenem und endogenem Anteile im Neutral-S gemachten Unterscheidung ausnimmt.

Ich habe früher konstatiert, daß bei gemischter Kost die mittlere tägliche Neutral-S-Ausscheidung (bei Gesamt-S-Ausscheidung von 0,9443) 0,1421 und 14,8% beträgt. Hiervon entfallen nach den obigen beiläufigen Berechnungen auf den exogenen Anteil etwa 0,082 g S, auf den endogenen 0,060 g S. Nach Voit werden bei einem normalen erwachsenen Menschen bei gemischter Kost von 118 g zugeführtem Eiweiß, die den täglichen Durchschnittsbedarf darstellen, etwa 105 g tatsächlich resorbiert.

Einem Eiweißumsatz von 105 g Nahrungseiweiß entsprechen also ungefähr 0,082 Neutral-S. Fragen wir uns nun, welcher Menge Organeiweiß der endogene Neutral-S-Wert von 0,060 ungefähr entspricht, so erhalten wir hierfür den Betrag von etwa 30 g, und zwar durch folgende Erwägungen: Der Hungerkünstler Beauté schied im Mittel täglich bei einer Gesamtschwefelausfuhr von 0,674 0,113 Neutral-S aus. Wenn wir uns aus dem Gesamt-S die Menge des in diesem Falle umgesetzten Eiweißes, das ja infolge der Unterbrechung jeder Nahrungszufuhr nur aus Körpereiweiß stammen konnte, berechnen, so erhalten wir hierfür bei einem Durchschnitts-Schwefelgehalt von 1%[1]) die täglich umgesetzte Menge von 67 g Eiweiß. (Pettenkofer und Voit haben für den Eiweißverbrauch im Hunger die dieser Zahl nahestehende von 75 g bei der Arbeit resp. 79 g in der Ruhe festgestellt. Da wir es hier bei Beauté mit einem Hungerkünstler zu tun haben, dessen Gewichtsverlust nachweisbar geringer war als bei anderen Hungerkünstlern, so ist diese kleine Differenz begreiflich.) Bei 67 g Körpereiweißumsatz wurden also 0,113 g Neutral-S ausgeschieden. Es fragt sich nun, welche Menge Körpereiweiß 0,060 g Neutral-S — unserem endogenen Werte für den normalen Erwachsenen — entsprechen. Wenn 0,113 Neutral-S 67 g Körpereiweiß entsprechen, so entsprechen 0,060 Neutral-S 35 g Körpereiweiß. Aus den Untersuchungen über die unterste Grenze des Eiweißbedarfs beim Menschen hat sich als übereinstimmendes Resultat die Zahl von 30 bis 40 g Eiweiß, im Mittel also 35 g bei mittlerem Körpergewicht ergeben. Bei dieser Eiweißzufuhr ist es noch gerade möglich, den Körper im N-Gleichgewicht zu erhalten. Das heißt so viel, als daß bei dieser Eiweißzufuhr der Eiweißverlust des Organismus gerade gedeckt wird. Es ergibt sich also auch hieraus als täglicher Körpereiweißverbrauch für den normalen Erwachsenen 35 g. Falls nun einem täglichen Körpereiweißverbrauch von 35 g eine Neutral-S-Ausscheidung von 0,060 g, einem Nahrungseiweißverbrauch von 105 g hingegen eine solche von 0,082 g Neutral-S entspricht, so ergibt sich, daß 1 g Körpereiweiß 0,0017 Neutral-S, hingegen 1 g Nahrungseiweiß nur 0,00078 Neutral-S, also bloß die Hälfte liefert.

Das Organeiweiß scheint also tatsächlich bei seinem Zerfall mehr Neutral-S als das Nahrungseiweiß

[1]) Hammarsten, Lehrb. d. phys. Chem. 1907, S. 718.

zu liefern. Wir haben hierdurch zunächst allgemein eine Erklärung dafür gewonnen, daß beim Zerfall von Körpergewebe relativ mehr Neutral-S ausgeschieden wird, daß daher auch in allen jenen Zuständen, wo Gifte auf die Zellsubstanz zerstörend einwirken, die Neutral-S-Ausscheidung erhöht ist. Die Komponente des sauren S wird in diesem Falle des vermehrten Körpereiweißzerfalles im Verhältnis zum Neutral-S zurückgedrängt erscheinen, weil von dem aus der vermehrten Gesamt-S-Ausscheidung stammenden Plus an S ein gegen die Norm vergrößerter Teil auf der Seite des Neutral-S zu finden ist. Daher die Steigerung des Prozentwertes, z. B. im Falle der Chloroformnarkose bei Kast und Mester von 16,6 auf 30,8% und die dementsprechende Verminderung des sauren S von 83,4 auf 69,2%.

Die Steigerung der Neutral-S-Ausscheidung unter dem Einfluß von Protoplasmagiften erklärt sich hiermit schon an und für sich durch die Steigerung des Körpereiweißzerfalles, der ja in allen diesen Fällen mit Sicherheit nachgewiesen ist. Wir sind nicht notwendig zur Annahme gezwungen, daß mangelhafte Oxydation des Schwefels die Ursache der Steigerung des Neutral-S sei. Zwar haben Harnack und Kleine[1]) darauf verwiesen, daß bei Menschen, die an anhaltender schwerer Dyspnoe leiden, der Prozentwert des Neutral-S ganz erheblich steigt; aber dies mit der verminderten Sauerstoffzufuhr zu den Geweben unmittelbar in Beziehung zu bringen, liegt kein zwingender Grund vor. Harnack und Kleine bemerken, daß ein direkter Zusammenhang der gesteigerten Neutral-S-Ausscheidung mit den dyspnonischen Anfällen nicht zu sehen war. Es ließe sich ebenso gut denken, daß die Verminderung der Sauerstoffzufuhr zu einem rascheren Absterben der Körperzellen führt, wodurch sich schon allein die Steigerung des Neutral-S-Wertes ergeben würde.[2])

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 37, 417, 1899.

[2]) Eine eingehendere Erörterung der Beziehung des Neutral-S zur Oxydationskraft des Organismus findet sich in den Arbeiten von Jawein (Zeitschr. f. klin. Med. 22, 43, 1893), Rudenko (Virchows Archiv 125, 102, 1891), Reale und Bocri (Int. med. Congr., Rom, 3, 292, 1894), Padoa (Il ricambio mat. nelle anemie gravi, Mailand 1909) und insbesondere von Benedict.

V. Neutral-S-Ausscheidung in Krankheiten.

Die bisher in der Literatur über die Neutral-S-Ausscheidung bei Krankheiten vorliegenden Untersuchungen sind nicht sehr zahlreich. Ich stelle dieselben in tabellarischer Form zusammen.

Tabelle IV.

Die Neutral-S-Ausscheidung in Krankheiten (Literatur-Zusammenstellung).

Name des Autors	Krankheit	Gesamt-S	Neutral-S	%	Anmerkung
Salkowski	Pneumonie			25	
Benedict	„ Frau	0,561	0,3112	55,4	Fieber
„	Dieselbe	0,8364	0,2448	29,2	„
„	„	0,8304	0,1849	22,2	fieberfrei
„	„	0,9321	0,022	2,3	Rekonvalesz., Mittel von 5 Tg.
„	„	1,04	0,1785	17,6	Einige Zeit später
„	Pneum., Mann	1,1517	0,1638	14,2	N-Bilanz neg., Mittel von 5 Tg.
„	Derselbe	0,9945	0,0976	9,8	N-Bilanz pos., Mittel von 5 Tg.
Harnack und Kleine	Doppelseitige Pneumonie			38,2	
„ „ „	do.			23,3	
Reale und Velardi	Pneumonie			42,0	
Benedict	Typhus	1,0189	0,1994	19,5	Fieber, N-Bilanz neg., Mittel v. 16 Tg.
„	Derselbe	0,6009	0,1458	24,3	Fieber, geringe Nahrungsaufnahme
„	Rekonvalesz. eines mittelschwer. Typhus	0,9499	0,1116	11,7	Mittel von 5 Tagen
„	Phthisis flor.	0,7011	0,1989	28,4	Fieber, N-Bilanz neg., Mittel von 8 Tg.
Reale und Velardi	Empyem	vermindert	vermehrt	43,6	
„ „ „	Meningitis tbc.	vermehrt	„	vermehrt	
„ „ „	Fortgeschritt. Tbc. pulm. (9 Fälle)	vermindert	„	46	
Harnack und Kleine	Tbc. mil.			22,4	
„ „ „	„ intest.			22,3	
Capezzuoli[1])	Morb. Addison. mit Tbc. pulm.	0,8263	0,244	29,5	Fieber, Mittel von 6 Tagen
„	Derselbe mit Suprarenin behandelt	0,666	0,211	31,7	Mittel von 5 Tg.

[1]) Il Policlinico 1909, 277.

Tabelle IV (Fortsetzung).

Name des Autors	Krankheit	Gesamt-S	Neutral-S	%	Anmerkung
Eiselt[1]) (Asboth schesVerfahr.)	Morb. Addison.	1,52—1,63	0,420 bis 0,920	27,6—56,4	Die letzten 8 Tage vor dem Tode, rascher Verfall
Reale und Velardi	Mening. epid.	vermehrt	vermehrt	vermehrt	
Harnack und Kleine	Myocarditis			41,0	Mittel aus 3 Bestimmungen
„ „ „	Peritonitis			34,3	
„ „ „	Pyelonephritis			28,8	do.
Reale und Velardi	Nephr. acut.	„		vermehrt	
„ „ „	„ chron.	vermindert		„	
„ „ „	Aorteninsuff.	„		19,0	
„ „ „	Pleur. exsud.	„		19,4	
Harnack und Kleine	Diabetes				
Reale und Velardi	„	vermehrt	vermehrt	61,4	
„ „ „	Derselbe nach Verschwinden des Zuckers aus dem Harn			46,0	
Tobler[2]) (Folins Methode)	Intoxikation u. Hunger	0,1989	0,0673	33,8	Kind, 8800 g Gew.
do.	do.	0,1973	0,0819	41,5	„ 6700 g „
do.	do.	0,3386	0,1333	39,2	„ 9500 g „
Reale und Velardi	hypertr. Lebercirrh. und Diabetes			höchster beobachteter Wert	
„ „ „	Lebercirrh.			43,7	
„ „ „	Ict. catarrh.			59,5	
Fr. Müller	Cholelithiasis u. Cirrh. hep.	1,35	0,219	16,3	Milchdiät
„ „	do.	1,53	0,323	18,9	Gemischte Kost
Harnack und Kleine	Carc. vesic. fell.			18,6	Sehr starker Icterus
„ „ „	Allgem. Carcinose			23,4	
„ „ „	Carc. ventr.			24,5	Mittel aus 5 Bestimm.
Fr. Müller	Ca ventr. et hep.			22,1	Mittel aus 3 Bestimm.
Capezzuoli	Anaemia grav.			30,5	
„	„ „			41,2	Mit Exitus let.
Padoa	Chlorose		0,2297	24,7	
„	Chlorose nach der Heilung		0,1738	16,7	
„	Anchylostomum-Anämie		0,2801	26,3	
„	do.		0,2960	27,4	
„	Chlorose	1,1414	0,3274	28,6	
„	Anämie bei Tbc. pulm.	0,7335	0,2841	38,7	N-Bilanz neg., Mittel von 6 Tg.

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 69, 393, 1910.

[2]) Vers. Deutsch. Naturf. u. Ärzte in Salzburg 1909. Abteilung f. Kinderheilk.

Tabelle IV (Fortsetzung).

Name des Autors	Krankheit	Gesamt-S	Neutral-S	%	Anmerkung
Padoa	Schwerste puerper. Anämie	1,25	0,216	17,2	Ausgang in Heilung
„	Schw. Anämie bei Carc. uteri	0,8346	0,2144	25,7	
„	Anaem. splen.	1,035	0,2677	25,8	
Reale und Velardi	Anaem. pernic.	vermind.		vermehrt	
„ „ „	Chlorose	„		„	
„ „ „	Kachex. carcin.	„		„	
„ „ „	Skorbut und Malaria	„		„	
Petrarca[1])	Anchylostomum-Anämie	0,748	0,262	35,0	Mittel von 5 Tg.
„	do.	0,619	0,192	31,0	do.
Taylor[2])	Anaem. pernic.			vermind.	
Moraczewski[3])	„ „			normal oder wenig erhöht erhöht	
Stadthagen[4])	Leukämie			normal	
Lépine	Ict. acut.			24—62	
Schmidt	Anaem. pernic.	0,996	0,259	23,6	Mittel aus 4 Bestimm.
„	„ „	1,28	0,464	32,3	
„	Chlorose	1,372	0,145	18,2	Mittel aus 2 Bestimm.
„	Aktinomykose		0,293	25,3	Exit let.

Als Ergebnis dieser zum Teil nur relativ verwertbaren Bestimmungen können wir festhalten, daß der Neutral-S bei Infektionskrankheiten die Tendenz zur vermehrten Ausscheidung zeigt. Das gleiche gilt für schwere Anämien, kachektische Zustände und Intoxikationen. Dieses Resultat stimmt mit den früheren Ergebnissen gut überein. Allen diesen Zuständen ist ja ein vermehrter Gewebszerfall eigentümlich. Im Sinne meiner früheren Auseinandersetzungen muß der Neutral-S steigen, wenn Körpereiweiß in vermehrter Menge abgebaut wird. Der Organismus der an Infektionskrankheiten, schweren Anämien, kachektischen Zuständen und Intoxikationen leidenden Kranken steht, allgemein gesprochen, unter dem Einfluß von toxischen Substanzen, die teils bakteriellen, teils anderweitigen Ursprungs sind und den Körpereiweißbestand schädigen. Die Schädigung des Körpereiweiß-

[1]) Il Policlinico 1909, 9.
[2]) Nach Padoa zit.
[3]) Nach Padoa zit.
[4]) Virchows Archiv 109, 390, 1887.

bestandes geht auch aus der in diesen Zuständen beobachteten negativen N-Bilanz mit Sicherheit hervor. Es ergibt sich daher die erhöhte Neutral-S-Ausscheidung in diesen Zuständen ungezwungen als ein der pathologischen Einschmelzung von Körpergewebe zukommendes Symptom.

Wenn ich nun meine eigenen Werte einer Betrachtung unterziehe, so stimmt das Ergebnis derselben mit den früheren Resultaten vollständig überein. Die pathologischen Fälle, die ich auf die Neutral-S-Ausscheidung geprüft habe, betreffen 30 Tuberkulöse in allen Stadien der Krankheit und 5 Carcinome.

Tabelle V.

Neutral-S-Ausscheidung bei Tuberkulose und Carcinom.
(Eigene Bestimmungen.)

Diagnose, Geschlecht und Alter	Datum	Harnmenge	Diazo-Reaktion	Gesamt-S	Saurer-S	Neutral-S	Neutral-S in % vom Gesamt-S	Anmerkung
1. Mischung d. Harnes von 7 Tbc. pulm. I. Stad., 20 bis 35 J., ohne Fieber, Männer	1. bis 5. Jan.	1271	neg.	0,8442	0,6535	0,1907	22,5	
2. Pleuritis tbc., 40 J., Fieber über 40°	26. Okt.	800	pos. 2	0,8757	0,6872	0,1885	21,5	
3. Derselbe, vor der Entlassg. ohne Fieber	7. Dez.	1200	neg.	0,3987	0,3144	0,0843	21,1	
4. Tbc. pulm. III. Stad., meist Fieber über 38°, Mann	14. Nov.	712	„	0,4336	0,3725	0,0611	14,0	
5. do.	20. „	800	pos. 3	1,3480	1,1336	0,214	15,8	
6. do.	24. „	1000	„ 4	a) 1,1803 b) 1,1990	0,9914	0,1889 0,2076	16,0 17,3	
7. Tbc. pulm. III. Stad., Mann, ohne Fieber	21. Dez.	1200	neg.	0,8858	0,7454	0,1404	15,8	
8. Tbc. pulm. III. Stad., Fieber bis 38°, Mann	3. „	1100	pos. 4	0,9909	0,7908	0,2001	20,2	
9. do.	12. „	1100	„ 4	0,9582	0,7908	0,1674	17,4	
10. do.	23. „	800	„ 2	0,6103	0,5206	0,0996	14,6	
11. Tbc. pulm. III. Stad., Mann, 22 J., meist Fieber bis 39°	5. Nov.	1300	„ 2	0,6933	0,5583	0,1350	19,4	
12. do.	12. „	1000	„ 4	0,6613	0,5327	0,1290	19,5	
13. do.	8. Dez.	1000	„ 4	0,9171	0,6822	0,2349	25,6	
14. do.	22. „	800	„ 5	a) 0,6112 b) 0,6296	0,4662	0,1450 0,1634	23,7 25,9	
15. do.	31. „	800	„ 3	0,5734	0,4389	0,1345	23,4	Harn Nr. 16 ursprünglich neg., erst beim Stehen im Brutschrank pos. geworden
16. do. einige Tage ante mort., 40°	7. Jan.	1000	„ 4	0,5860	0,4185	0,1675	28,5	
17. Tbc. pulm.	20. Nov.	1400	„ 3	1,1926	0,9911	0,2015	16,8	

Tabelle V (Fortsetzung).

Diagnose, Geschlecht und Alter	Datum	Harnmenge	Diazo-Reaktion	Gesamt-S	Saurer-S	Neutral-S	Neutral-S in % vom Gesamt-S	Anmerkung
III. Stad., Mann, 23 J., meist Fieber bis 38°								
18. do.	22. Nov.	1670	pos. 2	0,9227	0,7631	0,1596	17,2	
19. do.	25. „	1400	„ 2	0,9688	0,8251	0,1437	14,8	
20. do.	29. „	1425	neg.	0,9032	0,7514	0,1518	16,8	
21. do.	3. Dez.	1200	pos. 3	0,8733	0,6920	0,1813	20,7	
22. do.	5. „	1200	„ 3	0,7909	0,6433	0,1476	18,6	
23. do.	10. „	900	„ 3	0,8477	0,7049	0,1428	16,8	
24. do.	13. „	1000	„ 4	0,9178	0,7442	0,1736	18,9	
25. do.	29. „	1300	„ 2	0,7468	0,5819	0,1649	22,0	
26. Tbc. pulm.	26. bis	900	pos. 5	1,1082	0,8285	0,2797	25,2	
III. Stad., Mann, 30 J., Fieber über 38°, Harnmischung von 4 Tagen	30. Jan.							
27. Tbc. pulm.	13. „	1400	„ 3	0,6805	0,4829	0,1976	29,0	
III. Stad., Mann, 31 J., Fieber über 38°								
28. Mischung von Nr. 16 und Nr. 27	8. „	1000	„ 4	0,5756	0,4130	0,1626	28,2	Ursprünglich pos. 2, im Brutschrank verstärkt
29. Mischung d. Harne von Nr. 26, 27 und einer weiteren Tbc.	20. bis 23. Jan.	862	„ 5	0,8261	0,5752	0,2509	30,3	
III. Stad., mit Fieber über 38°, 26 jähr. Mann								
30. Diab. mell. u. Tbc. pulm. III. Stad., 42 J., Mann, Fieber über 38°, 2 Tage vor dem Tode	20. Okt.	1400	„ 3	a) 1,427 b) 1,397	1,131	0,296 0,266	20,7 19,0	
31. Carcinoma ventr., 50 jähr. Mann, ohne Fieber	15. Feb.	600	neg.	0,9062	0,7217	0,1845	20,3	
32. Ca. peritonei, 42 j. Mann, ohne Fieber	7. Jan.	1300	„	0,5027	0,3609	0,1421	28,2	
33. do.	8. „	1200	„	0,4693	0,3210	0,1483	31,6	
34. Ca. ventr., 56 jähr. Frau, ohne Fieber	15. Feb.	700	pos. 2	0,4837	0,3333	0,1504	31,0	
35. Ca uteri recidiv., multiple Metastasen, 55 jähr. Frau, ohne Fieber	1. März	900	„ 2	0,4774	0,3033	0,1741	36,4	

Die Tabelle enthält neben Angaben über die Provenienz des Harnes und die Schwefelausscheidung auch solche über das Vorhandensein und die Intensität der Diazoreaktion. Die Reaktion wurde stets mit Sulfanilsäure und mit Paramidoacetophenon vorgenommen. Sie fiel, wie auch aus anderen Untersuchungen bekannt ist, mit dem letzteren Reagens weit schöner und empfindlicher aus, wurde aber auch mit sehr wenigen Ausnahmen stets mit der Sulfanilsäure erhalten.

Die Angaben über die Intensität der Reaktion beziehen sich auf Paramidoacetophenon. Positiv 2 bedeutet schwache, positiv 3 mittel-

starke, positiv 4 starke, positive 5 sehr starke Reaktion. Als positiv wurden nur Reaktionen mit deutlichem Rosaschaum angesehen.

Durchschnittswerte (Tabelle V).

Diagnose	Diazo-reaktion	Zahl der Bestimmungen	Gesamt-S	Neutral-S	Neutral-S in % vom Gesamt-S
1. Leichte Tbc. pulm.	neg.	5	0,6977	0,1256	18,0
2. Fortgeschrittene Tbc. pulm.	pos. 2	6	0,8159	0,1485	18,2
3. do.	„ 3	8	0,9328	0,1875	20,1
4. do.	„ 4	8	0,8215	0,1791	21,8
5. do.	„ 5	3	0,8546	0,2282	26,7
6. Carcinom	2 Fälle pos. 2	5	0,5416	0,1598	29,5

Die Neutral-S-Ausscheidung bei der Lungentuberkulose ist sowohl ihrem absoluten, wie ihrem Prozentwert nach höher als normal. Der Durchschnitt der normalen Ausscheidung betrug

Neutral-S	%
0,1557	16,5

Der Durchschnitt bei der Lungentuberkulose in den verschiedenen Stadien

Neutral-S	%
0,1737	20,9

Die leicht Tuberkulösen zeigten geringere Neutral-S-Werte als die schwer Tuberkulösen. Die Schwere des jeweiligen Falles wurde nach dem objektiven Lungenbefund, dem Fieber und Allgemeinzustand beurteilt. Je ausgedehnter die Lungentuberkulose, je höher das Fieber, je schlechter somit die Prognose sich gestaltete, um so mehr stiegen die Neutral-S-Werte an. Die höchsten Werte zeigten schwer kachektische Tuberkulöse.

Fast genau gleichsinnig wie die Neutral-S-Werte bewegten sich die Schwankungen der Ehrlichschen Diazoreaktion. Sie war in den Fällen der stärksten absoluten und relativen Neutral-S-Ausscheidung auch am stärksten, in den Fällen der geringsten Neutral-S-Ausscheidung negativ. Mit der Steigerung der Neutral-S-Werte nahm auch die Diazoreaktion an Intensität zu. Die Prozentwerte des Neutral-S vom Gesamt-S bewegen sich (parallel mit der Intensität der Diazoreaktion) zwischen 18,0 bis 26,7%. (In meinen Fällen handelte es sich durchwegs um in Spitalspflege befindliche Kranke, die im wesentlichen gleiche Kost erhielten.)

Der Anteil, den das Organeiweiß an der Ausscheidung des Neutral-S nimmt, ist somit bei der Tuberkulose anscheinend um so größer, je stärker die Diazoreaktion auftritt. Die Diazoreaktion ist nun seit jeher mit dem Körpereiweißzerfall in Verbindung gebracht worden. Auch zur Zeit, da der Zusammenhang dieser Reaktion mit den Proteinsäuren noch nicht bekannt war, war es der unverkennbare Parallelismus mit dem Körpereiweißzerfall, der zur Annahme führte, es handle sich bei der Diazoreaktion um ein Derivat des zerfallenden Gewebseiweißes. Wenn wir an diesem aus vielfachen klinischen Erfahrungen gewonnenen Ergebnisse festhalten und den deutlichen Zusammenhang der Neutral-S-Ausscheidung bei der Lungentuberkulose mit dieser Reaktion vermerken, so haben wir damit einen neuen Beweis dafür gewonnen, daß wir tatsächlich im Neutral-S ein Maß für die Organeiweißzersetzung besitzen.

Ich habe in einer meiner früheren Arbeiten über die Diazoreaktion[1]) ebenso wie andere Autoren darauf hingewiesen, daß diese Reaktion bei schweren Konsumtionen, besonders bei fieberhaften Krankheiten auftritt. Aus den Resultaten der Neutral-S-Untersuchungen ergibt sich, daß der Neutral-S bei fieberhaften Krankheiten, schweren Anämien, kachektischen Zuständen und Intoxikationen gesteigert auftritt. Diazoreaktion und Neutral-S-Ausscheidung weisen also gewisse Analogien auf. Es muß Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, festzustellen, inwieweit der Neutral-S auch bei anderen Krankheiten, die mit positiver Diazoreaktion einhergehen, diesen Parallelismus zeigt.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich darauf verweisen, daß Schlüsse nur aus größeren Versuchsreihen möglich sind. Die Diazoreaktion kann manchmal aus uns zum Teil noch unbekannten Gründen in Fällen, wo wir ein positives Ergebnis erwarten, negativ sein. Es ist mir gelungen, einen dieser Gründe aufzudecken. Ich habe nämlich gefunden, daß bei schwerer Tuberkulose der Harn mitunter in frischem Zustande keine Diazoreaktion zeigt, dagegen nach längerem Stehen in der Kälte oder im Brutschrank positiv reagiert. Diese Erscheinung wurde von mir auf eine Vorstufe des Prinzips der Diazoreak-

[1]) Die Literatur über die Diazoreaktion findet sich in meiner Arbeit in „Beitr. z. Klin. d. Tuberk." 8, 177, 1907.

tion zurückgeführt. In manchen Fällen war durch das Stehen im Brutschrank aus einer negativen eine Diazoreaktion mit der Intensität positiv 5 geworden. Erst diese von mir im Verlaufe meiner Arbeit konstatierte Tatsache hat es mir ermöglicht, den erwähnten Parallelismus zwischen Diazoreaktion und Neutral-S-Ausscheidung bei der Tuberkulose zu erweisen. Bezüglich des Näheren verweise ich auf meine diesen Gegenstand betreffende Publikation.[1])

Wenn wir aus der Tatsache, daß bei positiver Diazoreaktion auch gesteigerte Neutral-S-Ausscheidung vorhanden ist, umgekehrt einen Schluß auf den diese Reaktion verursachenden Körper ziehen wollen, so können wir heute so viel sagen, daß die sich auch aus Untersuchungen anderer Autoren ergebende Annahme, es handle sich hierbei um eine Proteinsäure, d. h. einen N- und S-haltigen, aus dem Eiweißzerfall stammenden Körper, aller Wahrscheinlichkeit nach richtig sein dürfte.

Es liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit, auf die Frage näher einzugehen, welche der Proteinsäuren die Reaktion verursache. Das Prinzip der Diazoreaktion ist, wie auch frühere Untersuchungen Ehrlichs, Clemens' und meine eigenen Arbeiten ergeben haben, kein normaler Harnbestandteil. Es kann also die Antoxyproteinsäure, wie Bondzynski, Dombrowski und Panek vermuten, nicht die Ursache der Reaktion sein. Hiervon überzeugte ich mich auch durch Darstellung der verschiedenen in Betracht kommenden Proteinsäuren. Nur aus pathologischen Harnen konnte ein Diazoreaktion gebender Körper gewonnen werden. Die nähere Charakterisierung dieses Körpers, dessen Verwandtschaft mit dem normalen gelben Harnfarbstoff ich in einer früheren Arbeit wahrscheinlich zu machen gesucht habe, soll einer eigenen Untersuchung vorbehalten bleiben.

Die Betrachtung der Neutral-S-Werte bei den 5 Carcinomfällen zeigt, daß wir wohl aus einer positiven Diazoreaktion auf eine erhöhte Neutral-S-Ausscheidung schließen dürfen, daß aber umgekehrt nicht jede erhöhte Neutral-S-Ausscheidung mit Diazoreaktion einherzugehen braucht. Das Prinzip der Diazoreaktion ist eben ein

[1]) Med. Klinik 1910, 867.

spezifischer Körper, der nur unter bestimmten Verhältnissen vorhanden ist; die den Neutral-S konstituierenden Körper können aber auch ohne Diazoreaktion vermehrt ausgeschieden werden. Die Neutral-S-Werte bei Carcinom zeigen im Durchschnitt einen höheren Prozentwert als bei der Tuberkulose, absolut dagegen stehen sie den normalen nahe. Der verhältnismäßig niedrige absolute Wert erklärt sich, wenn wir den aus der geringen Gesamt-S-Ausscheidung sich ergebenden niedrigen Stand des Eiweißumsatzes betrachten, der mit der geringen Nahrungsaufnahme zusammenhängt. Daraus ergibt sich, daß die dem Nahrungseiweiß entstammende Quote des Neutral-S hier geringer sein muß als z. B. in der Norm. Trotz eines Gesamteiweißumsatzes von etwa nur der Hälfte der Norm ist der absolute Wert des Neutral-S aber ebenso groß wie normal. Es muß daher der Neutral-S hier mit einem größeren Anteil endogenen Ursprungs sein als unter normalen Verhältnissen. Dies drückt sich deutlich in den höheren Prozentwerten aus. Die in den Carcinomfällen beobachteten Prozentwerte sind die höchsten, die von mir konstatiert wurden. Auch hier zeigen diese Werte, ähnlich wie bei der Tuberkulose, wohl nur erhöhten Organeiweißzerfall an.

Daß die Werte beim Carcinom im Durchschnitt noch höher sind als bei der Tuberkulose, erklärt sich meiner Ansicht nach aus dem auch sonst bei dieser Krankheit erwiesenen starken Körpereiweißzerfall, der höher sein kann als bei irgendeiner anderen Krankheit. Dieser stärkere Körpereiweißzerfall hängt wohl mit den im Tumor selbst stattfindenden Zerfallserscheinungen und möglicherweise mit den hierbei frei werdenden Fermenten zusammen, die auch auf den sonstigen Körpereiweißbestand schädlich einwirken könnten. Wir sehen ferner aus dem Gesamt-S, daß alle 4 Carcinomfälle mit den hohen Prozentwerten des Neutral-S eine geringe Nahrungsaufnahme haben: 0,4 bis 0,5 g Gesamt-S gegenüber 1 g etwa in der Norm. Der 5. Fall von Carcinom mit 20,3% Neutral-S und 0,9 g Gesamt-S dürfte schon mehr Nahrung aufgenommen haben. Er zeigt wahrscheinlich auch darum einen geringeren Prozentwert des Neutral-S. Inanitionszustände führen aber, wie wir gesehen haben, zu einer Erhöhung der prozentuellen Neutral-S-Werte. Inanition und Kachexie durch Einwirkung von das Zellprotoplasma schädigenden Substanzen vereinigen sich wahrscheinlich beim Carcinom, um den Körpereiweißzerfall zu steigern, und treiben die Prozentwerte des Neutral-S besonders stark in die Höhe. Daß aber auch andere Krankheiten mit Neutral-S-Werten einhergehen können, die den beim Carcinom beobachteten nahe stehen, geht z. B. aus dem bei schwerer Tuberkulose beobachteten Wert 30,3% mit Sicherheit hervor. Andererseits haben wir in dem relativ niedrigen Werte von 20,3% bei dem Magencarcinom in Nr. 31 der Tabelle V einen

Beweis, daß der Neutral-S nicht unbedingt beim Carcinom erhöht sein muß.

Wir werden daher die Neutral-S-Ausscheidung beim Carcinom auch mit unseren früheren Ergebnissen in Einklang bringen können, aus denen hervorging, daß vermehrter Körpereiweißzerfall vermehrte Ausscheidung der den Neutral-S konstituierenden Substanzen bewirkt. Daß diese Ausscheidung beim Carcinom stärker ist, als sonst beobachtet, kann vielleicht differentialdiagnostisch verwendet werden, ohne daß aber, wie sich ja aus ähnlichen Werten bei schwerer Tuberkulose und dem geringen Werte bei Nr. 31 der Tabelle V ergibt, dies als etwas für das Carcinom unbedingt Spezifisches hingestellt werden könnte.

VI. Beziehungen der Proteinsäuren zum Neutral-Schwefel.

Die Untersuchungen über die Gruppe der Proteinsäuren des Harnes, die sich an die Namen Bondzynski, Gottlieb, Dombrowski, Panek und ihrer Schüler knüpfen, haben zur Aufklärung der Natur derjenigen Körper beigetragen, die den Neutral-S des Harnes liefern. Die Proteinsäuren sind dadurch charakterisiert, daß sie in Alkohol unlösliche Barytsalze bilden und aus sodaalkalischer Lösung durch Quecksilberacetat gefällt werden. Ihre Darstellung beruht auf diesen Reaktionen. Zu ihrer Fraktionierung wurde ihr verschiedenes Verhalten zu Bleiessig, zu saurem Quecksilberacetat und zu Kupferacetat verwendet. Gegenwärtig unterscheidet man die All-, die Ant-, die Oxyproteinsäure und das sog. Urochrom Dombrowskis. Da eine sichere quantitative Methode der Fraktionierung dieser Substanzen (mit Ausnahme vielleicht des Urochroms Dombrowskis) bisher nicht bekannt ist, so wissen wir über die Bedeutung jedes einzelnen dieser Körper noch nichts Bestimmtes.

Die ersten, die auf die Proteinsäuren als Muttersubstanz des Neutral-S hinwiesen, waren Bondzynski und Panek. Durch die Auffindung der Oxyproteinsäure und der Alloxyproteinsäure halten sie die Natur des Neutral-S des Harnes für aufgeklärt, und sie meinen, dieser S werde von nun an S der All- und der Oxyproteinsäure heißen müssen. Gawinski hat auf diese Frage bezügliche quantitative Untersuchungen vorgenommen. Er fand in 4 Bestimmungen 1. 96,17%, 2. 60,63%, 3. 98,63%, 4. 79,12% des im Harne nach der Asbothschen Methode [modifiziert nach Modrakowski[1])] bestimmten Neutral-S in den Pro-

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. 38, 562, 1903.

teinsäuren wieder. Er sagt: „Daß die Menge des Neutral-S wirklich als Maß der Ausscheidung von Proteinsäuren im Harne gelten kann, davon überzeugte uns die beinahe genaue Übereinstimmung der Zahlen, die das Tagesquantum des Neutral-S vorstellen, mit den auf den S des Barytsirups, d. i. den S der Proteinsäuren sich beziehenden Zahlen. Daß der S des Barytsirups wirklich als S der Proteinsäuren zu betrachten ist, erhellt daraus, daß, wie eigens zur Aufklärung dieser Frage unternommene Untersuchungen ergeben hatten, die ganze im Barytsirup enthaltene S-Menge nach der Fällung derselben mit Quecksilberacetat in dem Quecksilberniederschlag sich wieder finden läßt. In 3 von den früher untersuchten Harnen betrug der S der Proteinsäuren durchschnittlich 91,3% des Neutral-S, nur in einem Falle zeigte sich ein ziemlich bedeutender Unterschied. In diesem Falle war der Harn jedoch nicht gehörig eingeengt vor der Fällung mit Ätheralkohol."

Die von mir über die Frage der Beziehung des Neutral-S zum S der Proteinsäure unternommenen Untersuchungen stimmen im wesentlichen mit diesem Resultate Gawinskis überein. Es gelangten 5 Fälle zur Untersuchung. Der S wurde zunächst im Harne nach der Folinschen Methode bestimmt, dann wurde aus dem Harne in der von Ginsberg beschriebenen Weise der Barytsirup gewonnen und derselbe in einer geringen Menge Natriumcarbonat gelöst. Hierbei schied sich der Baryt der Proteinsäuren als Bariumcarbonat aus. Vom Bariumcarbonat wurde abfiltriert. Das Filtrat, meist mehr oder weniger dunkelgelb gefärbt, wurde hierauf auf die der ursprünglichen Harnmenge entsprechende Konzentration verdünnt. Die in ihrem Aussehen der Harnfarbe entsprechende Flüssigkeit erwies sich immer frei von Baryt und Schwefelsäure. Auf dem Filter, auf dem das Bariumcarbonat zurückgeblieben war, konnte kein Bariumsulfat nachgewiesen werden. Oxydation des Neutral-S während der zur Gewinnung des Barytsirups notwendgien Prozeduren war also nicht eingetreten. Das Filtrat wurde auf Eiweiß, auf Albumose und auf Histon geprüft; keiner dieser Körper konnte aber in demselben nachgewiesen werden. In dem in Natriumcarbonat gelösten, auf Harnkonzentration gebrachten Barytsirup wurde nun der S in derselben Weise bestimmt, als würde Harn vorliegen, nur mit dem Unterschiede, daß dann zur Fällung der durch Oxydation mit Na_2O_2 entstandenen Schwefelsäure nur etwa 3 ccm der 10%igen Bariumchloridlösung verwendet wurden. Aus dem in dieser Weise in Natriumcarbonat gelösten Barytsirup wurden die Proteinsäuren durch Quecksilberacetat gefällt. Gelbe

Färbung des Niederschlages zeigte den Endpunkt der Fällung an. Der Quecksilberniederschlag, der die Proteinsäuren enthielt, wurde abfiltriert, auf dem Filter gewaschen und hierauf in den Nickeltiegel gespült, das Wasser abgedampft und der Rückstand auf dem Boden des Nickeltiegels sofort mit 10 g Na_2O_2 verascht. Dies geschah wegen der hierbei sich entwickelnden Quecksilberdämpfe unter dem Abzuge. Der Nickeltiegel wird durch das Quecksilber etwas amalgamiert, verträgt aber jedenfalls eine größere Zahl von derartigen Bestimmungen. Auch hier wurde entsprechend der geringeren Menge Schwefelsäure mit entsprechend weniger Bariumchlorid gefällt. Zur Kontrolle, ob die Gegenwart von Quecksilber auf die Bestimmung hindernd einwirke, wurde einmal Niederschlag und Filtrat direkt auf den S-Gehalt untersucht. Es ergab sich annähernd derselbe Wert wie bei der Bestimmung des S im Barytsirup.

Tabelle VI.

Baryt- und Proteinsäurenfraktion. Die Werte als $BaSO_4$ angegeben.

Nummer der Tabellen I und V und Krankheit	Neutral-S in 25 ccm Harn	S der Barytfraktion	In % des Neutral-S	S der Proteinsäurenfraktion	In % des Neutral-S
1. Nr. 4, Tab. I. Normal	0,0352	0,0370	105	0,0259	73,6
2. Nr. 4, Tab. V. Tbc. pulm. III. Stad.	0,0366	0,0362	98,9	0,0238	65,0
3. Nr. 16, Tab. V. Tbc. pulm III. Stad.	0,0566	a) 0,0577 b) 0,0587	102 103	0,0466	82,3
4. Nr. 14, Tab. V. Tbc. pulm. III. Stad.	0,0351	0,0319	90,8	—	—
5. Nr. 34, Tab. V. Ca. ventr.	0,0392	0,0261	66,7	0,0206	52,7

Im Mittel aus diesen fünf Bestimmungen ergibt die Barytfraktion 94,8% des Neutral-S, die Proteinsäurefraktion 68,4% desselben. Während der S der Barytfraktion als fast identisch mit dem Neutral-S angesehen werden kann, ergibt die Proteinsäurenfraktion einen Rest übereinstimmend mit Ginsbergs Untersuchungen, der auch für den N beim Vergleich des N des Barytsirups mit dem N der Proteinsäurefraktion einen Rest nachweisen konnte, der nicht in der Proteinsäurefraktion enthalten war. Nichtsdestoweniger ist der Prozentanteil des S der Oxyproteinsäurefraktion am Neutral-S des Harnes — 68,4% — ein so großer, daß wir den überwiegenden Teil desselben als

Proteinsäuren-S ansehen müssen, so daß Gawinskis Schluß, der Neutral-S sei ein Maß für die Proteinsäurenausscheidung des Harnes, auch durch meine Resultate bestätigt wird.

Was hinsichtlich der Ausscheidung der Proteinsäuren sonst bekannt ist, ergibt auch an sich eine fast vollständige Analogie mit meinen früheren, nur aus der Neutral-S-Ausscheidung des Harnes gewonnenen Resultaten. Ginsberg stellt relative Konstanz des Verhältnisses zwischen Eiweißzerfall und Proteinsäureausscheidung fest; dasselbe haben Salomon und Saxl[1]) wenigstens für die Norm bestätigt. Von den Proteinsäurebestandteilen wurde bisher nur der N zu ihrer quantitativen Bestimmung verwertet. Der N der Proteinsäuren wurde in Beziehung zum Gesamt-N gebracht. Wenn wir nun den Neutral-S als Maß für die Proteinsäuren ansehen dürfen, so ergeben sich aus dem Verhältnis zwischen Neutral-S und Gesamt-S die gleichen Schlüsse wie zwischen N der Proteinsäuren und Gesamt-N; denn die Gesamt-S-Ausscheidung des Harnes entspricht der Gesamt-N-Ausscheidung, da beide dem Eiweiß entstammen.

Benedict fand bei Typhus, Phthise und Pneumonie in längeren Untersuchungsreihen das Verhältnis des N zu S wie 16,7 zu 1 resp. rund 16 zu 1. Dies ist aber das mittlere Verhältnis dieser beiden Elemente auch im Eiweißmolekül. Harnack und Kleine schließen aus weit über 1000 quantitativen S-Bestimmungen des Harnes, daß nicht der nur Gesamt-S dem Gesamt-N im allgemeinen proportional ist, sondern daß sich das Verhältnis des neutralen zum Gesamt-S stets in gleichem Sinne verändert, d. h. je mehr Neutral-S ausgeschieden wird, um so reichlicher erscheinen im Harne auch N-Verbindungen, die nicht Harnstoff sind. Wie für den S die Schwefelsäure das Endprodukt bildet, so für den N der Harnstoff. Hammarsten[2]) sagt: „N und S laufen bei ruhenden und arbeitenden Personen dem Eiweißumsatz parallel, und die Menge des mit dem Harn ausgeschiedenen S ist deshalb auch ein Maß der Eiweißzersetzung."

Wenn wir somit den Gesamt-S als Maß für den Eiweißumsatz ansehen dürfen, was auch allgemein zugegeben wird, und den Neutral-S als Maß für die Proteinsäureausscheidung, so können aus dem Verhältnis zwischen Gesamt-S und Neutral-S ähnliche Schlüsse gezogen werden wie aus dem Verhältnis

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1909, 1768 und Beiträge z. Carcinomforschung 1910.

[2]) Lehrb. d. phys. Chem. S. 472.

zwischen Gesamt-N und Proteinsäure-N. Nur zeigt der Proteinsäure-S prozentuell größere Ausschläge als der Proteinsäure-N. Vom Gesamt-S des Eiweißmoleküls bleibt nämlich ein verhältnismäßig größerer Teil im Molekül der Proteinsäuren als N vom Gesamt-N des Eiweißmoleküls. Die höheren Ausschläge in den Prozentwerten zeigen natürlich etwas größere Differenzen in der physiologischen Breite des Neutral-S, als dies beim Proteinsäure-N der Fall ist. Die normalen Neutral-S-Werte zeigten Differenzen von etwa 11 bis 20% des Gesamt-S, der Proteinsäure-N von 3,1 bis 5% des Gesamt-N bei Ginsberg, 1,3 bis 2% bei Salomon und Saxl, wobei letztere keinen Unterschied zwischen normalen und pathologischen Fällen mit Ausnahme des Carcinoms machen. Die relative Konstanz des Verhältnisses zwischen Eiweißzerfall und Proteinsäureausscheidung kommt auch in der Neutral-S-Ausscheidung zum Vorschein und findet ihren besten Ausdruck in dem von mir früher gewonnenen Ergebnisse, daß der Neutral-S mit einem exogenen Anteil aus dem Nahrungs-, mit einem endogenen Anteil aus dem Organeiweiß stammt.

Bei Milchnahrung werden nach Gawinski weniger Proteinsäuren ausgeschieden als bei einer gleich viel N enthaltenden gemischten Nahrung. Dies ist in gleicher Weise auch für den Neutral-S feststellbar. Unter dem Einflusse der Phosphorvergiftung nimmt nach Bondzynski und Gottlieb und nach Ginsberg die Proteinsäureausscheidung bedeutend zu; gleiches wurde auch für den Neutral-S konstatiert. Gawinski berichtet über vermehrte Ausscheidung der Proteinsäuren bei Typhus. Daß der Neutral-S bei dieser Krankheit gesteigert ist, geht aus den Werten Benedicts hervor. Salomon und Saxl haben bei Carcinomatösen gesteigerte Proteinsäureausscheidung zeigen können. Ich selbst habe unter 5 Fällen von Carcinom 4mal prozentische Neutral-S-Werte gefunden, die im Durchschnitt höher waren, als die sonst von mir in Krankheiten beobachteten höchsten Werte. Salomon und Saxl haben Steigerung der Proteinsäureausscheidung bei Schwangeren gefunden. Es ist nicht ohne Interesse, daß auch hierfür eine Analogie in der Literatur für den Neutral-S vorliegt. Harnack und Kleine fanden nämlich bei einer gleichmäßig und ge-

nügend ernährten trächtigen Hündin enorm hohe prozentuale Neutral-S-Werte, und zwar steigend bis zum Geburtsakt. Diese Beobachtung empfahlen die Autoren schon damals der Beachtung.

Aus den quantitativen Bestimmungen des S der Proteinsäuren und aus den sonstigen Analogien zwischen Proteinsäuren und Neutral-S ergibt sich, daß wir in dem letzteren ein Maß für die Ausscheidnug der Proteinsäuren besitzen. Die quantitative Bestimmung des Neutral-S im Harn dürfte daher wegen ihrer größeren Einfachheit gegenüber der Proteinsäurebestimmung berufen sein, als klinisch brauchbare Methode zur Bestimmung der dieser Gruppe angehörenden Substanzen zu dienen.

Über die Bedeutung der einzelnen Proteinsäuren ist uns noch sehr wenig bekannt. Sie haben im Sinne des für den Neutral-S Ausgeführten einen teils exogenen, teils endogenen Ursprung. Doch wissen wir gegenwärtig nicht, ob sich die früher erwähnte Trennung der Proteinsäuren in All-, Ant-, Oxyproteinsäure und Urochrom Dombrowskis auch für ihren Ursprung verwerten lassen wird. Infolge des Mangels einer brauchbaren quantitativen Bestimmung für diese Säuren ist diese Feststellung gegenwärtig unmöglich. Für das Urochrom hat Dombrowski in der Fällung mit Kupferacetat eine quantitative Bestimmungsmethode angegeben. Er konstatiert, daß normal etwa 0,5 g Urochrom ausgeschieden werden und daß die Urochromwerte bei Krankheiten, insbesondere beim Typhus, gesteigert sind. Anderseits konstatierte er zusammen mit Browinski[1]), daß das Urochrom bei Milchnahrung in geringerer Menge ausgeschieden wird als bei gemischter Nahrung und in der größten Menge bei reiner Fleischnahrung. Ich selbst habe einige Bestimmungen des Urochroms Dombrowskis in der Weise vorgenommen, daß ich den Harn mit Ätzbaryt fällte, hierauf den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure beseitigte, die Kohlensäure durch einen Luftstrom entfernte und dann mit Kupferacetat fällte. Erst nach mehrstündigem Stehen pflegte sich ein deutlicher Niederschlag zu Boden zu setzen. Dieser wurde abfiltriert, gewaschen und in ihm mit der Folinschen Methode der S bestimmt. Es ergaben sich die in folgender Tabelle zusammengestellten Werte.

---

[1]) Malys Jahresber. 38, 353, 1908.

Tabelle VII.

Bestimmungen des Urochroms nach Dombrowski.

Nr. der Tabelle und Krankheit	Gesamt-S	Neutral-S	%	Urochrom-S	% vom Neutral-S	Urochrom g
Nr. 4, Tab. I. Normal	0,9784	0,1888	19,3	0,0394	20,8	0,788
„ 1, „ V. Tbc. pulm. I. Stad.	0,8442	0,1907	22,5	0,0294	15,4	0,588
„ 26, „ „ „ „ III. „	1,1082	0,2797	25,2	0,0269	9,6	0,538
„ 34, „ „ Ca. ventr.	0,4837	0,1504	31,0	0,0173	11,5	0,346
— „ Tbc. pulm. III. Stad.	—	—	—	0,0429	—	0,8576

Die geringe Zahl der Untersuchungen über das Urochrom Dombrowskis erlaubt noch keine sicheren Schlüsse über die Bedeutung dieses Körpers.

Eine einfache Beziehung desselben zum Organeiweißzerfalle scheint jedoch nicht zu bestehen.

Zusammenfassung.

1. Die Gruppe der den Neutral-S konstituierenden Körper stammt teils aus dem Nahrungs-, teils aus dem Organeiweiß (exogener und endogener Anteil des Neutral-S). Das Organeiweiß liefert verhältnismäßig mehr Neutral-S als das Nahrungseiweiß. Die Qualität der Nahrung ist auf die Menge des Neutral-S von Einfluß.

2. Der Neutral-S wird bei Zuständen, die mit vermehrtem Organeiweißzerfall einhergehen, relativ vermehrt ausgeschieden.

3. Die Lungentuberkulose geht mit Erhöhung der absoluten und relativen Neutral-S-Werte einher.

4. Die Neutral-S-Ausscheidung bei der Tuberkulose zeigt deutliche Beziehungen zur Ehrlichschen Diazoreaktion.

5. Beim Carcinom wurden die höchsten relativen Neutral-S-Werte beobachtet.

6. Der Neutral-S kann als ein Maß für die Ausscheidung der Proteinsäuren im Harne angesehen werden.

Über den Mechanismus der Beeinflussung der körperlichen Entwicklung durch die Wasserhärte.

Nach Arbeiten von Carl Röse.

Von

Ragnar Berg.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium von Dr. Lahmanns Sanatorium auf Weißer Hirsch bei Dresden.)

(Eingegangen am 7. Juni 1910.)

In einem vorhergehenden Aufsatze[1]) habe ich die Arbeiten Röses erwähnt, durch die er einen unverkennbaren Zusammenhang zwischen der körperlichen Entwicklung des Menschen und der Härte, besonders der bleibenden Härte des Trinkwassers, nachgewiesen hat. Man kann getrost sagen, daß alle Einwände hauptsächlicher Natur, die bisweilen gegen diesen Befund erhoben worden sind, entweder auf einem Mißverständnis (gewöhnlich zu flüchtigem Durchsehen!) oder auf einem Unvermögen, ein so gewaltiges Tatsachenmaterial richtig zu bewerten, beruhen. An sich dürfte ja die Bedeutung von Kalk und Magnesia für die gesunde Entwicklung des Organismus außer jeder Diskussion stehen, höchstens könnte man noch im Zweifel sein, ob tatsächlich gerade der Wasserhärte eine so große Bedeutung zukommen mag, wie Röse meint. Die folgenden Ausführungen dürften vielleicht geeignet sein, hier Klarheit zu schaffen.

Als Röse sein Tatsachenmaterial übersehen konnte, entstand für ihn sofort eine neue Frage: Wie gelangt denn die Trinkwasserhärte zu diesem Einfluß auf den menschlichen Organismus? Das nächstliegende war ja, daß die Wasserhärte sich direkt durch Zufuhr als Trinkwasser, Kaffee, Suppe oder Bier geltend machen würde. Doch kommt dieser Weg in Wirklichkeit nur wenig in Betracht. Die Mineralstoffmengen,

[1]) Diese Zeitschr. 24, 282, 1910.

die mit dem Trinkwasser oder Kaffee dem Körper zugeführt werden, sind zu gering, um in Betracht zu kommen, und wenn auch in einigen Gegenden Deutschlands Suppe und Bier in größeren Mengen konsumiert werden, ist das anderwärts in Deutschland und ganz sicher in Schweden nicht der Fall. Eher könnte man sich die indirekte Einwirkung auf dem Umwege über die Bodenerzeugnisse vorstellen. Die außerordentlich großen Schwankungen im Kalkgehalt der Nahrungsmittel, die die Tabellen in Königs „Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel" aufweisen, bestärkten Röse in dieser Annahme. Um aber sicher zu gehen, ließ er Roggen- und Kartoffelproben aus kalkreicher und aus kalkarmer Gegend untersuchen, wobei ebenfalls große Verschiedenheiten zutage traten. Die von Professor v. Bunge in Basel ausgeführten Kontrollanalysen zeigten jedoch ein wesentlich anderes Aussehen:

Tabelle I.

Ortschaft	Trinkwasserhärte	Bei Roggen				Bei Kartoffeln	Geologische Formation
		enthielten 100 g Trockensubstanz mg					
		Analytiker: Dr. S.		Analytiker: Prof. v. B.		Analytiker: Dr. S.	
		CaO	MgO	CaO	MgO	CaO	
Tambach	1,4°	28,0	212,0	61,5	219,2	123,0	Rotliegendes
Clingen	39,9°	57,0	199,0	71,4	217,9	560,0	Diluviallehm, Keuperletten
Weißensee	114,2°	—	—	—	—	590,0	Gipskeuper

Offenbar konnte die Fehlerquelle nur in der Art der Vorbereitung des Analysenmateriales liegen. Wie ich mich selbst überzeugen konnte, hält es oft außerordentlich schwer, das Material von anhaftendem Staub oder (bei Knollen usw.) gar eingeschlossener Erde zu befreien. Ebenfalls aus eigener Anschauung kann ich bezeugen, daß es bei dem Massenbetrieb der Versuchsstationen einfach unmöglich ist, eine solche Arbeit auf die Reinigung des Materials zu verwenden, wie sie tatsächlich für die Entscheidung physiologischer Fragen unumgänglich nötig ist. Dies dürfte wohl auch die Ursache zu den oben erwähnten Schwankungen der Literaturangaben gewesen sein, wie ja auch aus dem folgenden deutlich hervorgehen wird.

Jedenfalls wurden jetzt im eigens eingerichteten Laboratorium der Zentralstelle für Zahnhygiene in Dresden eine große Anzahl Bodenfrüchte neu untersucht, wobei die Proben von Gegenden mit möglichst großen geologischen Unterschieden geholt wurden. Gleichzeitig wurde die Trinkwasserhärte der Gegend bestimmt und oft auch die zur Probe gehörige Ackerkrume analysiert. Bei peinlichst sorgfältiger Reinigung der Proben ergaben dann auch die Analysen von 60 Roggenproben aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands und Schwedens wesentlich geringere Schwankungen (CaO = 1:2,0; MgO = 1:1,4), als sie z. B. in Wolffs

„Aschenanalysen" bei einem nur halb so großen Material verzeichnet sind (CaO = 1:4,8; MgO = 1:1,6).[1])

Aus diesen Tabellen geht weiter eins hervor, und zwar gerade das Gegenteil von dem, was Röse zuerst angenommen hatte: Zwischen der Trinkwasserhärte und der Zusammensetzung der Roggenasche existieren keinerlei Beziehungen.

Dasselbe Resultat wurde dann auch bei 32 Kartoffeluntersuchungen erhalten (maximale Schwankungen nach Röse bei CaO = 1:5,4, bei MgO = 1:1,8, nach Wolff: CaO = 1:18,0; MgO = 1:10,4).

Auch bei der Untersuchung der Asche von verschiedenen Gemüsen und Äpfelsorten konnte nur die Unabhängigkeit der Aschenbestandteile von der Trinkwasserhärte bestätigt werden.

Nun ist aber bekanntlich die Trinkwasserhärte durchaus nicht gleichbedeutend mit dem Gehalt der Ackerkrume an Kalk und Magnesia[2]), ganz besonders nicht in dem geologisch so bunt durcheinander geworfenen Mittel- und Nordeuropa. Tatsächlich zeigte es sich auch, daß der Kalkgehalt der Asche von Kartoffeln und Roggen mit zunehmendem Kalkgehalt des Bodens etwas ansteigt. Es sind jedoch die Schwankungen des Kalkgehalts in der Asche von Kartoffeln (1:1,5) und von Roggen (1:1,2) außerordentlich viel geringer als in der Ackerkrume (1:192 resp. 1:318).

Zwischen dem Magnesia- oder dem Phosphorsäuregehalt in der Asche von Kartoffeln und von Roggen einerseits, in der Ackerkrume andererseits bestehen dagegen anscheinend überhaupt keine Beziehungen.

Auch Untersuchungen von Hühnereiern ergaben, daß der Gehalt des (physiologisch am wichtigsten) Ei-

[1]) Bekanntlich ist in den Geweben sonst der Gehalt an Ca gewöhnlich größer als an Mg, nur bei den Samen und in den Eiern liegen die Verhältnisse umgekehrt. Das Mg muß also für den Keim von ganz besonderer Bedeutung sein. Dem entspricht auch, daß die Schwankungen im Mg-Gehalt am geringsten sind. Ebenso zeigen die anderen wichtigsten Stoffe nur geringe Schwankungen, während die mehr in den Hintergrund tretenden (Fe, Si) oder allgegenwärtigen (Na) starke Schwankungen aufweisen.

[2]) Vgl. diese Zeitschr. 24, 283, 1910.

gelbes an Mineralbestandteilen, besonders an Kalk, vom Kalkgehalt des Bodens unabhängig ist (Tabelle II).

Tabelle II.

Analysen von Eigelb.

Ortschaft	Durchschnittliche Trinkwasserhärte	Geologische Formation	In 100 g Trockensubstanz sind enthalten in mg							Trockensubstanz in %
			MgO	CaO	P_2O_5	Fe_2O_3	SiO_2	K_2O	Na_2O	
Calmbach	1,4	Buntsandstein	69,6	378,2	2558,0	23,4	15,7	490,2	263,5	47,4
Hinterdittersbach	1,8	Kreidesandstein	61,3	421,0	2713,0	28,0	10,3	598,7	371,3	47,2
Hinterhermsdorf.	1,8	Kreidesandstein, Granit	51,2	353,8	2164,0	12,7	5,7	—	—	49,0
Reinhardtsdorf. .	1,9	Kreidesandstein	54,6	248,2	2493,0	20,1	11,0	339,1	256,6	48,0
Clingen	39,9	Diluviallehm, Keuperletten	87,9	360,4	2610,0	42,1	9,0	333,3	248,1	48,4
		Durchschnitt:	64,9	352,3	2507,6	25,3	10,3	352,3	227,9	48,0

Es ist ja auch bekannt, daß die Hühner bei mangelnder Zufuhr von Kalk die Schalen immer dünner machen oder gar Eier ohne Kalkschale legen. Der für die Fortpflanzung der Art so wichtige Inhalt des Eies aber hat stets annähernd dieselbe Zusammensetzung.

Aus den Speichelversuchen[1]), den Fütterungsversuchen mit der Ziege[2]), aus den Analysen von Bodenerzeugnissen und Eiern geht unzweideutig hervor: Die körperliche Entwicklung kann durch Kalkmangel wohl aufgehalten und geschädigt, die Menge der Sekrete und Exkrete verringert werden, aber der Gehalt der physiologisch wichtigen Produkte an Mineralbestandteilen, besonders an Kalk, bleibt innerhalb enger Grenzen stets derselbe und unabhängig vom Kalkgehalte der Nahrung. Solange der Organismus gesund bleibt, vermindert er eher die Quantität der Produktion, als daß er die Qualität verschlechtert, und sollte dabei die Erhaltung der Qualität der wichtigsten physiologischen Produkte sogar auf Kosten des Gesamtorganismus geschehen.

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 24, 289, 1910.

[2]) Diese Zeitschr. 24, 299, 1910.

Dieser Versuch, den Mechanismus bei der Beeinflussung der Körperentwicklung durch die Trinkwasserhärte aufzuklären, war also vollkommen fehlgeschlagen. Es blieb eigentlich nur noch ein allgemein gangbarer Weg zur Erklärung dieser Tatsache übrig: Beeinflußt die Trinkwasserhärte die Zusammensetzung der Nahrungsmittel nicht während deren Entstehung und Wachstum, so kann sie es nur noch bei der Zubereitung der Speisen tun. Gewöhnlich wird das Gemüse — das ja für das Volk den eigentlichen Erdsalzträger darstellt — mit Wasser aufgesetzt und dann nach dem Garkochen die „schmutzige Brühe" abgeschüttet (NB.: Es handelt sich um die Zustände auf dem Lande und bei der minder bemittelten Städtebevölkerung!). Von vornherein ist ja da zu erwarten, daß das Wasser die Bestandteile, die im Gemüse in reichlicherer Menge und löslicher Form vorhanden sind, gemäß den Gesetzen des osmotischen Gleichgewichtes herauslösen wird. Abgesehen von der nicht koagulierbaren organischen Substanz müssen also vor allem die leicht löslichen Alkaliverbindungen zum großen Teil in das Abbrühwasser übergehen. Eine andere Frage ist jedoch, ob auch die Kalk- und Magnesiaverbindungen in den Nahrungsmitteln, besonders in den Gemüsearten in so leicht löslicher Form vorhanden sein können, daß auch diese Verbindungen der Auslaugung anheimfallen, und, wenn dies der Fall wäre, ob man diese Auslaugung durch die Benutzung von hartem Wasser zu verhindern vermag.

Um diese Frage zu beantworten und gleichzeitig ihre praktische Bedeutung klar zu machen, wurde eine große Anzahl Versuche in Form von Kochversuchen angestellt, wobei die Kartoffeln und das Gemüse anfangs mit natürlichen Wässern verschiedener Härte, später auch mit künstlich hart gemachtem, destilliertem Wasser unter denselben Verhältnissen wie im praktischen Leben gekocht wurden. Das analysenreine Material wurde möglichst wenig zerkleinert und von dem sorgfältig gemischten Material dann gleich große Teile zur Kontrollanalyse und zu jedem einzelnen Kochversuch derselben Versuchsreihe benutzt.

Tabelle III.

Analyse der beiden vorzugsweise zu den Kochversuchen benutzten natürlichen Wässer.

Bezeichnung	Gesamthärte in Grad	Bleibende Härte in Grad	1 l Wasser enthält in Gramm									
			CaO	MgO	FeO	K_2O	Na_2O	Cl	SO_3	N_2O_5	SiO_2	CO_2
Bühlauer Leitung	0,8	0,8	0,0044	0,0025	0,0006	0,0025	0,0063	0,0043	0,0103	Spur	0,0140	0
Coschütz, Brunnen	56,7	43,0	0,4748	0,0646	0,0020	0,0035	0,0314	0,1319	0,3959	0,1508	0,0209	0,2166

Von den 26 Versuchsreihen sollen hier nur einige als Beispiele angeführt werden: sie ergaben alle die gleichen Resultate. Durchschnittlich wurden 300 g Material mit 500 ccm Wasser gargekocht (bei Kar-

toffeln also $^1/_2$ Stunde) oder wenigstens dieses Verhältnis innegehalten. Bei den Versuchen mit Kartoffeln zeigte sich zuerst ein großer Unterschied, der auf die Beschaffenheit der Kartoffel zurückzuführen war, indem Kartoffeln, die beim Kochen platzen (sogenannte mehlige), weit stärker als die andern, durch ihre Schale geschützten, ausgelaugt werden (Tabelle IV). Weiter zeigte es sich, daß auch Kalk und Magnesia in löslicher Form in den Kartoffeln enthalten sein müssen, da sie ebenso stark wie die anderen löslichen Verbindungen ausgelaugt wurden.

Tabelle IV.

Kochversuche mit Kartoffeln und Bühlauer Leitungswasser.

Kartoffeln aus Andisleben, die beim Kochen nicht platzten			Kartoffeln aus Calmbach, beim Kochen geplatzt			Kartoffeln aus Weistropp, beim Kochen geplatzt		
	1 kg Kartoffeln enthielt vor dem Kochen g	Beim Kochen wurde ausgelaugt in %		1 kg Kartoffeln enthielt vor dem Kochen g	Beim Kochen wurde ausgelaugt in %		1 kg Kartoffeln enthielt vor dem Kochen g	Beim Kochen wurde ausgelaugt in %
Reinasche	10,316	1,5	Reinasche	10,306	34,9	Reinasche	8,288	52,4
CaO	0,115	18,9	CaO	0,090	46,7	CaO	0,111	27,0
MgO	0,446	0,2	MgO	0,431	35,0	MgO	0,384	41,7
SO_3	0,700	3,3	SO_3	0,684	36,8	SO_3	0,817	57,3
P_2O_5	1,010	4,1	P_2O_5	1,144	28,4	P_2O_5	1,672	38,5
Fe_2O_3	0,025	28,0	Cl	0,358	45,0	Cl	0,201	71,6

Genau die gleichen Resultate wurden beim Kochen von Rotkraut und Sellerie mit Bühlauer Leitungswasser erhalten (Tabelle V).

Tabelle V.

Kochversuche mit Rotkraut bzw. Sellerie und Bühlauer Leitungswasser.

Rotkraut aus Clingen			Sellerie aus Tambach		
	1 kg Rotkraut enthielt vor dem Kochen g	Beim Kochen wurde ausgelaugt in %		1 kg Sellerie enthielt vor dem Kochen g	Beim Kochen wurde ausgelaugt in %
Reinasche	9,229	48,4	Reinasche	11,097	61,6
CaO	0,795	38,2	CaO	0,847	66,2
MgO	0,378	48,7	MgO	0,374	53,7
Cl	0,137	89,0	Cl	0,249	76,7
SO_3	1,098	55,7	SO_3	0,229	61,6
P_2O_5	0,808	58,3	P_2O_5	2,246	42,3

Aus den weiteren Versuchen ging dann hervor, daß die Verwendung eines genügend harten Kochwassers die Auslaugung der Kalkverbindungen verhindern kann. Bei sehr harten Wässern findet sogar eine starke Ver-

mehrung des Kalkgehaltes im Gemüse statt, die durch das Ausfallen der die verschwindende Härte bedingenden Kalksalze des Wassers und durch Imbibieren zu erklären ist. Da die verwendeten Kochwässer nur wenig Magnesia enthielten, haben sie die Auslaugung der Magnesiaverbindungen nicht verhüten, wohl aber vermindern können: Tabellen VI, VII.

Tabelle VI.

Kochversuche mit Kartoffeln und natürlichen Wässern.
Jede Kartoffel war in 4 Teile geteilt.

	Kartoffeln aus Andisleben				Kartoffeln aus Kleinbrüchter			
	1 kg Kartoffeln enthielt ursprünglich	1 kg Kartoffeln enthielt nach ½stünd. Kochen mit			1 kg Kartoffeln enthielt ursprünglich	1 kg Kartoffeln enthielt nach ½stünd. Kochen mit		
		Bühlauer Wasser von 0,8° Gesamthärte	Dresdner Leit.-Wasser von 6,9° Gesamthärte	Coschützer Wasser von 56,7° Gesamthärte		Bühlauer Wasser von 0,8° Gesamthärte	Dresdner Leit.-Wasser von 6,9° Gesamthärte	Coschützer Wasser von 56,7° Gesamthärte
	g	in % der ursprünglich vorhandenen Aschenbestandteile			g	in % der ursprünglich vorhandenen Aschenbestandteile		
Reinasche	9,948	72,2	72,4	74,0	10,211	73,3	74,2	85,2
CaO	0,113	72,6	107,1	458,4	0,269	82,5	97,7	266,9
MgO	0,429	76,7	74,6	85,3	0,382	76,4	80,4	89,8
Cl	0,345	63,5	61,4	74,8	0,219	61,6	69,4	94,1
SO_3	0,856	55,8	53,3	77,4	0,771	69,3	75,7	91,2
P_2O_5	1,032	84,3	83,0	90,4	1,724	78,6	78,2	92,8
Fe_2O_3	0,026	53,8	53,8	73,1	0,048	37,5	25,0	35,4

Tabelle VII.

Kochversuch mit Savoyerkraut (Dresden) und natürlichen Wässern.

	1 kg Kraut enthielt ursprünglich	1 kg Kraut enthielt nach ¾stünd. Kochen mit			
		Bühlauer Wasser von 0,8° Gesamthärte	Dresdner Leit.-Wasser von 6,9° Gesamthärte	Brunnenwasser von Plauen von 24,6° Gesamthärte	Coschützer Wasser von 56,7° Gesamthärte
	g	in % der ursprünglich vorhandenen Aschenbestandteile			
Reinasche	7,307	37,3	45,1	48,9	57,8
CaO	0,601	59,2	71,9	94,5	142,8
MgO	0,289	39,1	40,5	49,8	59,9
K_2O	3,238	40,3	38,2	40,3	40,6
Na_2O	0,179	6,1	62,0	65,4	65,4
Fe_2O_3	0,016	68,7	63,1	68,7	68,7
P_2O_5	0,908	46,7	51,2	52,6	52,7

Um die durch das Ausfallen von Kalksalzen aus dem Wasser beim Kochen bedingte Verschleierung der Resultate zu vermeiden, sowie um

zu eruieren, ob bei Vorhandensein von weichem Trinkwasser die Auslaugung durch künstliche Zusätze zu vermeiden sei, sind dann viele Versuche mit künstlich durch Zusatz löslicher Kalksalze hart gemachtem destilliertem Wasser ausgeführt worden. Die Resultate entsprachen den Erwartungen; nur muß hervorgehoben werden, daß hierbei saure Kalksalze nicht benutzt werden sollten, da durch sie die Auslaugung anderer Substanzen eher vergrößert als vermindert wird. Sehr eigentümlich war dabei, daß beim Verwenden von primärem Calciumphosphat zum Hartmachen des Kochwassers unverhältnismäßig viel mehr (3 bis 8 mal) Phosphorsäure als Kalk vom Gemüse aufgenommen wurde. Sonst lagen die Verhältnisse gewöhnlich umgekehrt: daß das Gemüse mehr Kalk als Säure aufnahm. Von allen diesen Versuchsreihen seien nur zwei als besonders instruktiv hier mitgeteilt: Tabellen VIII, IX.

Tabelle VIII.

Kochversuche mit Kartoffeln und künstlich hart gemachtem Bühlauer Wasser,

	1 kg Kartoffeln enthielt ursprünglich	1 kg Kartoffeln enthielt nach ½stünd. Kochen mit		
		Bühlauer Wasser	Bühlauer Wasser, durch $CaH_4P_2O_8$ auf 40° Härte gebracht	destill. Wasser, durch $CaCl_2$ auf 40° Härte gebracht
	g	in % der ursprünglich vorhandenen Aschenbestandteile		
Reinasche	9,177	66,0	65,4	79,0
CaO	0,090	57,8	644,4	825,5
MgO	0,402	64,7	74,4	61,2
Cl	0,137	60,6	65,7	562,8
SO_3	0,842	60,4	93,8	57,8
P_2O_5	1,423	63,2	140,5	69,4

Tabelle IX.

Kochversuche mit Blumenkohl und künstlich hart gemachtem Wasser.

	1 kg Blumenkohl enthielt vor dem Kochen	1 kg Blumenkohl enthielt nach 1stünd. Kochen mit			
		Bühlauer Wasser von 0,8° Härte	dest. Wasser, durch Gipszusatz auf 10° Härte gebracht	dest. Wasser, durch Gipszusatz auf 20° Härte gebracht	dest. Wasser, durch Gipszusatz auf 40° Härte gebracht
	g	in % der ursprünglich vorhandenen Aschenbestandteile			
Reinasche	9,371	40,9	41,7	44,3	47,5
CaO	0,464	67,9	86,4	120,3	154,9
MgO	0,284	43,3	40,1	44,0	42,6
K_2O	4,670	39,2	38,5	37,3	36,0
Na_2O	0,127	52,7	58,3	48,0	86,6
P_2O_5	1,099	60,7	63,9	60,9	66,8
Fe_2O_3	0,009	44,4	66,7	66,7	66,7

Aus den Versuchen geht hervor, daß Kalk und Magnesia in den Vegetabilien wenigstens zum größten Teil in löslicher Form vorhanden sein müssen, da diese Verbindungen beim Zubereiten der Speisen mit weichem Wasser in ungefähr demselben Maßstabe wie die Kaliverbindungen ausgelaugt werden. Weiter geht, vor allem aus den Durchschnittszahlen (Tabelle X), mit aller Deutlichkeit hervor, daß der Grad der Auslaugung oder Anreicherung der Vegetabilien an Kalk ganz schrittweise mit der Weichheit oder Härte des Kochwassers steigt und fällt.

Tabelle X.

Durchschnittliche Auslaugung (—) oder Anreicherung (+) des Kalkgehaltes in den Vegetabilien beim Kochen mit verschieden harten Wässern in Prozenten.[1])

	Natürliche oder künstlich hart gemachte Wässer von				
	0,8° Härte	6,9–10,0° Härte	20,0–24,6° Härte	31,4–35,0° Härte	40,0–56,4° Härte
Kartoffeln	— 26,9	+ 15,5	+ 26,6	+ 187,3	+ 354,7
Blumenkohl, Sellerie, Möhren	— 41,7	— 13,6	+ 20,3	—	+ 63,1
Blattgemüse (Rotkraut, Weißkraut, Savoyerkraut) . .	— 48,5	— 28,1	— 5,5	—	+ 64,1

Man könnte noch einwenden, daß die gewöhnliche Kochweise die Nahrungsmittel dann auch alkaliarm machen und so einen Mangel an Alkalien herbeiführen könnte. Diese Befürchtung dürfte jedoch grundlos sein. Alle unsere Nahrungsmittel sind so reich an Alkalien, daß unser Bedarf daran mit Leichtigkeit gedeckt werden kann. Nur unter ganz besonderen Umständen (z. B. bei ganz einseitiger Fleischdiät) könnte man eine Verarmung des Organismus an Natrium für denkbar halten, wie ja dies auch schon Lahmann angenommen hat; Kalium ist jedoch stets so reichlich vorhanden, daß eine Verarmung daran nicht gut denkbar ist. Viel wahrscheinlicher wäre gerade bei sehr fleischhaltiger Nahrung eine Überschwemmung des Organismus mit Kaliumsalzen und dadurch hervorgerufener Kochsalzhunger.

Aus allen Versuchen schließt nun Röse, daß die Trinkwasserhärte zum geringeren Teil ihre Einwirkung auf den Organismus direkt geltend macht, vor allem aber

[1]) Ähnliche Kochversuche sind mit demselben Resultat schon von Snyder, Frisby und Bryant (Lossen in boiling vegetables etc. U. S. Departm. of Agric., Office of experim. stat., Bull. 1897, Nr. 43) ausgeführt worden, die sich jedoch auf Feststellung des Gesamtverlustes an Mineralbestandteilen beschränkten.

indirekt, indem sie bei der Zubereitung der Speisen deren Auslaugung und Verarmung an Kalk und Magnesia verhindert.

Deshalb sollte in Gegenden mit weichem Trinkwasser bei der Zubereitung der Gemüse dem Wasser ein lösliches Kalksalz zugefügt werden, wobei sich Gips als das beste und billigste Mittel gezeigt hat. Da aber einerseits manche Gemüse beim Kochen mit hartem Wasser hart oder gar schwer verdaulich werden, andererseits bei dieser Zubereitungsweise sicherlich trotz allem ein guter Teil der Calcium- und Magnesiumverbindungen ausgelaugt und durch anorganische Salze ersetzt werden, schlägt Röse wie schon vor ihm Lahmann vor, alle Gemüse im Dampftopf mit nur ganz wenig Wasser zu kochen. Dieser Vorschlag ist um so mehr zu beachten, da wir allen Grund zu der Annahme besitzen, daß den in organischer Bindung vorhandenen Kationen eine ganz andere, physiologisch wertvollere Wirkungsweise eigentümlich ist, als ihnen in anorganischer Bindung, als Salzen, zukommt.

Bei den Versuchen über den Einfluß der Ernährung auf den Mineralgehalt der Ziegenmilch hatte Röse gefunden, daß die Zusammensetzung der Milchasche von der Ernährung fast vollkommen unabhängig ist, wie ja bei einem Sekret von solcher physiologischer Wichtigkeit nur zu erwarten war. Bei Verminderung der Kalkzufuhr blieb die Zusammensetzung der Milchasche die alte, aber um dieses Ziel erreichen zu können, mußte der Organismus die Milchproduktion stark verringern, und gleichzeitig verschlechterte sich das Allgemeinbefinden des Versuchstieres. Ursprünglich beabsichtigte Röse die Zusammensetzung der Milchasche auch bei verschieden genährten Frauen zu untersuchen; durch die beim Tierversuch erhaltenen Resultate im Zusammenhang mit den Resultaten der anderen, schon beschriebenen Untersuchungen wurde jedoch die Aussicht, bei diesen Untersuchungen wesentliche Unterschiede im Kalkgehalt der Milch nachweisen zu können, so minimal, daß die Versuche unterblieben.[1]) Viel eher war anzunehmen, daß der wechselnde

[1]) In allerjüngster Zeit hat Hunaeus (diese Zeitschr. 22, 442, 1909) solche Untersuchungen ausgeführt, wobei er genau zu dem von Röse vorausgesehenen Resultat gekommen ist.

Kalkgehalt der Nahrung einen merkbaren Einfluß auf die Milchmenge, also auf die Stillungsfähigkeit der Mütter ausüben würde.

Bei den Schulkinderuntersuchungen war in 106 Dörfern auch die Zeit festgestellt worden, während der die Kinder von ihren Müttern gestillt worden waren. Es ist natürlich sehr schwer, aus den dabei erhaltenen Daten positive Schlüsse zu ziehen, da die Stillungsdauer ja häufig eine Sache der ortsüblichen Gewohnheit ist. In Baden und Württemberg ist es z. B. Sitte, wenn überhaupt, so nur kurze Zeit zu stillen, trotzdem diese Ortschaften zum Teil über mittelharte Trinkwässer verfügen, im kalkarmen Schweden wird dagegen durchschnittlich über ein Jahr lang gestillt. Trotzdem zeigt die Tabelle XI eine unverkennbare Tendenz zur Verlängerung der Stillungszeit mit dem Anwachsen der Trinkwasserhärte. Der eine unregelmäßige Sprung in der sonst zunehmenden Reihe rührt eben daher, daß unter den Dörfern mit einer Gesamthärte von 20,0 bis 24,9° gerade besonders viele württembergische Dörfer enthalten sind.

Tabelle XI.

Trinkwasserhärte und Stillungsdauer von Schulkindern.

Durchschnittliche Gesamthärte des Trinkwassers Grad	Anzahl der untersuchten Dörfer	Durchschnittliche Stillungsdauer Monate
Unter 10,0	38	6,3
10,0—19,9	29	6,3
20,0—24,9	13	5,3
25,0—37,9	16	6,5
Über 38,0	10	8,5

Eindeutige Resultate erhält man dagegen sicher, wenn man kleinere geschlossene Gebiete untersucht, wo die Sitte oder richtiger Unsitte des Nichtstillens noch keinen Eingang gefunden hat. Bei seinen Untersuchungen an den Musterungspflichtigen im nordthüringischen Kreise Hohnstein fand Röse so, daß die Ortschaften mit über 10° (bleibende Härte) harte Trinkwasser 10,1 Monate, die mit unter 10° Härte dagegen nur 8,3, also fast zwei Monate geringere Stillungsdauer hatten.

Besonders beachtenswert liegen die Verhältnisse in der Stadt Nordhausen, deren zugewanderte Bevölkerung größtenteils aus dem Kreise Hohnstein stammt. Die Stadt Nordhausen mit ihrem weichen (3,2°) Trinkwasser liegt wie eine Insel mitten in einem Gebiete mit viel härteren Trinkwässern. Vor einem Menschenalter hatte auch Nordhausen hartes Trinkwasser aus Pumpbrunnen. Der Nordhäuser Arzt Dr. Hagen hat nun auf Grund seiner langjährigen Erfahrung beobachtet, daß in vielen Nordhäuser Familien die jungen Frauen nicht mehr stillen können, während ihre Mütter noch dazu fähig waren, und Hagen möchte dafür ausschließlich das jetzige weiche Wasserleitungswasser verantwortlich machen. Aus Tabelle XII geht hervor, daß tatsächlich die durchschnitt-

liche Stillungsdauer der Nordhäuser Frauen in Abnahme begriffen ist. Während die 20 bis 22 Jahre alten Musterungspflichtigen im Durchschnitt noch 8,6 Monate gestillt worden sind, beträgt die Stillungsdauer bei den 6 bis 13 Jahre alten Knaben der Volks- und Mittelschule nur noch 7,3 Monate. Sowohl bei den Musterungspflichtigen als auch bei den Schulkindern haben die Voll-Nordhäuser eine geringere Stillungsdauer als die Halbstädter und die Landgeborenen. Ein schädlicher Einfluß des Stadtlebens ist also deutlich erkennbar. Aus den Tabellen XII B und C läßt sich aber nicht erkennen, ob vielleicht außer dem weichen Trinkwasser auch noch andere schädliche Einflüsse der Stadt, insbesondere vermehrter Alkoholgenuß, eine Rolle gespielt haben. Dagegen kommt in Tabelle XII D der ungünstige Einfluß des weichen Trinkwassers völlig ungetrübt zur Geltung. Die Bewohner des Vorortes Salza führen genau dieselbe städtische Lebensweise wie die Bewohner der eigentlichen Stadt Nordhausen, aber das Trinkwasser hat in Salza eine bedeutend größere Härte, und demgemäß ist dort die durchschnittliche Stillungsdauer fast $1^1/_2$ Monate länger.

Tabelle XII.

Stillungsverhältnisse in Nordhausen.

	Durchschnittliche Stillungsdauer Monate
A. Bei nordthüringischen Musterungspflichtigen und Schulkindern in Nordhausen.	
Nordthüringische Musterungspflichtige	8,6
Nordthüringische Knaben der Volks- und Mittelschule	7,3
B. Bei Musterungspflichtigen in Nordhausen.	
Voll-Nordhäuser	8,5
Halbstädter	8,5
Landgeborene	8,9
C. Bei Knaben der Volks- und Mittelschule in Nordhausen.	
Voll-Nordhäuser	6,7
Halbstädter	7,4
Landgeborene	7,6
D. Eingeborene Musterungspflichtige aus Nordhausen und aus Salza.	
Eingeborene aus Nordhausen (Trinkwasserhärte 3,2°)	8,5
Eingeborene aus Salza (Trinkwasserhärte 43,5°)	9,9

Genau wie in Nordhausen und Salza liegen die Verhältnisse in Gotha und dessen Vororten Sundhausen und Siebleben:

Eingeborene aus Gotha (Wasserhärte 0,8°): Stillungsdauer 5,1 Monate,

Eingeborene aus Sundhausen und Siebleben (Wasserhärte 54,2°): Stillungsdauer 5,5 Monate.

Was man vom Tierversuche her erwarten konnte, wurde also durch diese Untersuchungen bestätigt: zwischen Trink-

wasserhärte und Stillungsdauer bestehen Beziehungen, die wohl darauf beruhen, daß bei reichlicherer Zufuhr von Calcium die Milchmenge und damit die Stillungsfähigkeit zunimmt. Daß die Stillungsfähigkeit jedoch auch von vielen anderen Faktoren mit bedingt wird (Alkoholgenuß, Krankheit, Degeneration usw.), erkennt Röse dabei unumwunden an, er will nur die Aufmerksamkeit darauf lenken, daß auch der Kalkstoffwechsel hierbei eine nicht zu unterschätzende Rolle spielt.

Hiermit hängt wohl mittelbar zusammen, daß Röse nachweisen konnte, daß das Vorkommen der rachitischen Erkrankungen, gemessen an der Häufigkeit der Zahnhypoplasien (Emaildefekten), mit steigender Trinkwasserhärte abnimmt (Tabelle XIII).

Tabelle XIII.

Trinkwasserhärte und Hypoplasien bei Kindern.[1])

Durchschnittliche Gesamthärte des Trinkwassers Grad	Anzahl der untersuchten		Anzahl	Prozentsatz
	Ortschaften	Kinder	der Kinder mit Hypoplasie der Zähne	
A. Bei allen (23796) Volksschulkindern in 129 ländlichen Ortschaften.				
unter 5,0	23	5934	1124	18,9
5,0— 9,9	23	3875	628	16,2
10,0—19,9	54	9095	1413	15,5
20,0—29,9	13	2131	322	15,1
30,0—37,9	6	944	134	14,2
über 38,0	10	1816	231	12,7
B. Bei 1511 Kindern in 19 schwedischen Ortschaften.				
unter 5,0	3	207	23	11,1
5,0—14,9	9	777	48	6,2
über 15,0	7	527	16	3,0
C. Bei 4555 nicht gestillten Kindern in 106 Ortschaften.				
unter 5,0	21	966	264	27,3
5,0—14,9	32	1215	321	26,3
15,0—29,9	37	1937	445	22,9
über 30,0	16	437	99	22,7

Außerdem aber muß wohl der Trinkwasserhärte auch ein direkter Einfluß auf die Entwicklung der Rachitis zukommen, denn, wie aus Tabelle XIII C hervorgeht, war auch bei Kindern, die überhaupt nicht gestillt worden waren, ein

[1]) Aus dieser Tabelle geht wieder einmal der Einfluß des Nichtstillens auf die Häufigkeit der rachitischen Erkrankungen sehr deutlich hervor!

Abnehmen der Anzahl rachitischer Kinder beim Ansteigen der Trinkwasserhärte mit Sicherheit nachzuweisen.

Die gleichen Beziehungen zwischen Trinkwasserhärte und Häufigkeit der Hypoplasien konnten auch noch bei den Musterungspflichtigen (Tabelle XIV) mit Sicherheit nachgewiesen werden und zwar ergaben sich hierbei weit innigere Beziehungen als zwischen Trinkwasserhärte und Stillungsdauer. Ganz natürlich, weil hier ja der Einfluß der Trinkwasserhärte auf die Stillungsdauer sich mit dem direkten Einfluß auf den wachsenden Organismus vereinigt.

Tabelle XIV.

Trinkwasserhärte und Hypoplasien bei Musterungspflichtigen.

Durchschnittliche Trinkwasserhärte	Prozentsatz der Musterungspflichtigen mit Zahnhypoplasien
Grafschaft Hohnstein. Alle einheimischen Musterungspflichtigen.	
Bleibende Härte unter 10,0°	18,6
„ „ 10,0—19,9°	16,3
„ „ über 20,0°	10,2
Herzogtum Gotha. Alle Musterungspflichtigen aus den Landratsämtern Gotha, Ohrdruf und der Stadt Gotha.	
Stadtgeborene aus der Stadt Gotha. Gesamthärte = 0,8°	21,5
Landgeborene aus Ortschaften mit einer Gesamthärte unter 25,0°	10,9
Landgeborene aus Ortschaften mit einer Gesamthärte über 25,0°	7,5
Amtshauptmannschaft Meißen. Einheimische Musterungspflichtige des Landbezirks.	
Bleibende Härte unter 10,0°	25,2
„ „ über 10,0°	20,3
Provinz Posen. Alle einheimischen Musterungspflichtigen.	
Landratsamt Schwerin, Gesamthärte 19,3°	19,7
„ Samter, „ 31,7°	9,2
Stadt Nordhausen mit Vorort Salza.	
Eingeborene aus Nordhausen, Gesamthärte 3,2°	45,3
„ „ Salza, „ 43,5°	17,0
Stadt Gotha mit Vororten Sundhausen und Siebleben.	
Eingeborene der Stadt Gotha, Gesamthärte 0,8°	21,5
„ „ Vororte Sundhausen und Siebleben, Gesamthärte 54,2°	9,3

Wenn es Röse also gelungen ist, den Beweis zu bringen, daß der Kalkmangel des Trinkwassers die Stillungs-

fähigkeit der Mütter herabzusetzen und das Auftreten von Rachitis zu begünstigen vermag, so ist dieser Forscher jedoch von der Einseitigkeit der Auffassung weit entfernt, die ihm von seinen Kritikern oft nachgesagt wird.

Er verweist im Gegenteil mit Nachdruck auf die Arbeiten anderer Verfasser, wie Bunge, Aberhalden, Fiebig und Zweifel, und betont oft, daß Kalkmangel des Trinkwassers nur als ein beitragendes, oft vielleicht auslösendes Moment anzusehen ist. Jedenfalls darf man die mangelhafte Kalkablagerung in den rachitischen Knochen ebenso wenig als Ursache der Rachitis betrachten, wie z. B. umgekehrt die pathologische Kalkablagerung in den Gefäßwänden bei der Arterienverkalkung auf einen Kalküberschuß des Organismus zurückgeführt werden darf: beide sind nur Folgeerscheinungen, Symptome, aber nicht Ursache der Krankheiten. Stubenluftelend, Lues, Alkoholismus und allgemeine körperliche Erschöpfung der Eltern gehören zu den mittelbaren Ursachen, die das Auftreten der Rachitis mehr oder weniger begünstigen, und wahrscheinlich eine allgemeine, vorzugsweise die Gewebe des mittleren Keimblattes berührende Stoffwechselerkrankung prädisponieren. Diese Prädisposition ist zweifellos zum Teil erblich und verursacht bei unzweckmäßiger, unnatürlicher Ernährung eine krankhafte Störung des Nährsalzstoffwechsels. Unzweckmäßige Ernährung, auch Kalkmangel der Nahrung kann also wohl eine unmittelbare Ursache der Rachitis werden, aber nur insofern, als dadurch die latente Krankheit manifest wird.

Ein scheinbares Paradoxon liegt in der Tatsache, daß die Ernährung mit der an Calcium verhältnismäßig überreichen Kuhmilch beim Säugling Rachitis, also Erscheinungen des Kalkmangels hervorruft. Diese Tatsache haben schon viele Forscher zu erklären versucht, am glücklichsten war hierin wohl der Versuch von Zweifel.[1])

Seine Idee war, daß trotz reichlicher Zufuhr von Kalk der Säugling an Kalkarmut leiden kann, wenn das Calcium nicht in resorbierbarer Form vorhanden ist. Während die menschliche Milch beim Laben in ganz losen, dünnen Flöckchen gerinnt, ballt sich dabei das Kuhmilchcasein zu mächtigen Klumpen zusammen, die wohl von dem stärker säurehaltigen Magensaft des Kalbes leicht verdaut werden können, dagegen schwer vom säurearmen Magensaft des gesunden Kindes und noch schwerer vom jungen, an Verdauungsstörungen leidenden Säugling gelöst werden können.[2]) Die frische Milch enthält das ganze Calcium in löslicher

[1]) Zweifel, Ätiologie, Prophylaxis und Therapie der Rachitis. Leipzig 1900.

[2]) Zu ähnlichen Resultaten kam neuerdings Gaucher (Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 148, 361, 1909) bei Versuchen an Hunden mit permanenten Duodenalfisteln.

Form, nach dem Laben aber enthält der unlösliche Caseinniederschlag auch nach Entfetten im Soxhlet und stundenlangem Auswaschen mit Wasser etwa die Hälfte des Calciums in unlöslicher Form.[1]) Diese Caseinkalksalze sind ja für den menschlichen Säugling mit gestörter Verdauung nahezu unlöslich und unresorbierbar. Nun wäscht außerdem der Darm eines an schweren Verdauungsstörungen leidenden Säuglings den Caseinniederschlag nicht so sorgfältig aus wie der Chemiker im Laboratorium. Läßt man das Milchgerinnsel von ungekochter gelabter Kuhmilch ohne sorgfältige Auswaschung nur 24 Stunden lang auf dem Filter abtropfen, dann bleiben 70 bis 72,5% des Calciums im Caseinrückstand zurück. Noch ungünstiger werden die Verhältnisse, wenn die Milch vor dem Labzusatz gekocht wird: ungekochte gelabte Milch bildet anfangs einen festen Kuchen, der aber bald die Molke und mit ihr die löslichen Kalksalze aus sich herauspreßt, wogegen gekochte Milch beim Laben in dichter, kleinflockiger, etwa Griesbrei ähnlicher Form gerinnt und dabei erhebliche Mengen Milchserum in sich einschließt. Läßt man gekochte, gelabte Milch auf dem Filter nur abtropfen, so enthält nach Zweifel der Caseinniederschlag 81,4 bis 89,1% der gesamten Caseinverbindungen. Wie sehr das Kochen der Milch ihre Verdaulichkeit beeinträchtigt, geht schon aus der Tatsache hervor, daß Kälber nur schlecht gedeihen oder zugrunde gehen, wenn sie mit gekochter Kuhmilch gefüttert werden.

Zweifels Theorie hat offenbar zwei Fehler: erstens war sie nur für Kinder mit völlig daniederliegender Verdauung streng gültig, oder zweitens wurde angenommen, daß das im Magen vom Casein eingeschlossene Calcium bei der Verdauung im alkalischen Darm erst recht unlöslich werden sollte. Da diese Annahme äußerst unwahrscheinlich sei, unternahm Röse eine Reihe Versuche zur Klärung der Frage nach der Löslichkeit der Kalkverbindungen in der verdauten Milch.

Zu jedem Versuch wurden 500 g Kindermilch aus einer Dresdener Molkerei verwendet. Sämtliche Versuche wurden an einem Tage mit derselben Milch angesetzt. Ich muß hier von einer Wiedergabe der genauen Versuchsanordnung absehen und mich auf die Resultate der Versuche beschränken (Tabelle XV). Aus den Versuchen 1 und 3 ergibt sich, daß schon das gründliche Abspülen der Milchgerinnsel auf dem Filter genügt hat, um praktisch alle wasserlöslichen Bestandteile in die abgelaufene Molke zu überführen. Durch die entsprechenden Kontrollversuche (2 und 3), bei denen der Filterrückstand erst dreimal mit Aceton gründlich zerrieben und dann vollständig mit Wasser ausgewaschen worden war, konnten nur noch Spuren löslicher Substanzen erhalten werden, die im Caseinrückstand mechanisch eingeschlossen gewesen

[1]) Zweifel nimmt irrtümlich an, daß dieses Calcium als tertiäres Phosphat vorhanden sei.

Tabelle XV. Löslichkeit einiger Aschenbestandteile der Milch bei künstlicher Verdauung.

Versuchs-Nummer	Versuchsanordnung	Es sind enthalten in	Aschenbestandteile in mg					Verteilung d. Aschenbestandteile in %				
			Gesamt-Asche	Fe_2O_3	CaO	MgO	P_2O_5	Gesamt-Asche	Fe_2O_3	CaO	MgO	P_2O_5
1	Ungekochte Milch gelabt, Rückstand sorgfältig abgespült.	Casein	1241,8	3,6	590,0	21,3	570,3	13,30	61,84	51,23	17,94	50,71
		Molke	8098,4	2,3	561,6	96,9	554,4	86,70	38,16	48,77	82,06	49,29
2	Ungekochte Milch gelabt, Rückstand mit Aceton zerrieben, mit Wasser vollst. ausgewaschen.	Casein	1173,7	4,4	570,9	19,1	528,5	12,68	73,95	49,34	16,03	47,24
		Molke	8082,2	1,6	586,2	99,9	590,3	87,32	26,05	50,66	83,97	52,76
3	Gekochte Milch wie in 1.	Casein	1265,9	3,8	595,7	28,0	581,1	13,72	58,20	52,43	23,81	51,91
		Molke	7962,2	2,8	540,5	89,8	538,4	86,28	41,80	47,57	76,19	48,09
4	Gekochte Milch wie in 2.	Casein	1155,8	3,0	552,5	24,0	509,5	12,24	59,60	47,56	20,36	44,86
		Molke	8286,1	2,0	609,0	93,8	626,4	87,76	40,40	52,44	79,64	55,14
5	Ungekochte Milch gelabt, pepsinverdaut.	Unverdautem	377,0	0,9	58,1	5,8	73,6	4,06	18,75	5,01	4,76	6,46
		Molke u. pepsinverdautem Teil	8913,1	3,9	1102,2	115,9	1064,2	95,94	81,25	94,99	95,24	93,54
6	Gekochte Milch wie in 5.	Unverdautem	231,8	1,7	60,0	3,9	68,3	2,49	34,00	5,17	3,16	5,97
		Molke u. pepsinverdautem Teil	9237,8	3,3	1101,2	121,0	1075,6	97,51	66,00	94,83	96,84	94,03
7	Ungekochte Milch gelabt und filtriert, Filterrückst. trypsinverdaut.	Unverdautem	104,7	1,3	42,4	2,0	28,8	1,12	28,26	3,63	1,55	2,47
		trypsinverdautem Teil	2204,8	1,6	591,2	25,4	600,3	23,51	34,78	50,74	20,07	51,42
		Molke	7069,8	1,7	531,7	99,3	538,3	75,37	36,96	45,63	78,38	46,11
8	Gekochte Milch wie in 7.	Unverdautem	75,7	1,1	32,5	2,7	24,0	0,81	18,96	2,78	2,16	2,04
		trypsinverdautem Teil	2158,9	2,8	599,9	32,6	602,5	23,13	48,28	51,35	26,01	51,23
		Molke	7099,9	1,9	536,0	89,9	549,5	76,06	32,76	45,87	71,83	46,73
9	Ungekochte Milch gelabt, pepsin- und trypsinverdaut.	Unverdautem	39,7	1,0	12,0	4,5	3,2	0,43	17,24	1,05	3,44	0,28
		Molke u. pepsinverdautem Teil	7997,3	3,2	1118,3	119,7	1072,7	86,68	55,17	97,56	91,66	92,34
		trypsinverdautem Teil	1189,8	1,6	15,9	6,4	85,8	12,89	27,59	1,39	4,90	7,38
10	Gekochte Milch wie in 9.	Unverdautem	24,0	0,3	12,1	0,5	3,1	0,26	4,69	1,04	0,39	0,25
		Molke u. pepsinverdautem Teil	8109,5	4,9	1140,0	121,5	1106,2	87,82	76,56	97,73	95,68	94,21
		trypsinverdautem Teil	1100,7	1,2	14,4	5,0	64,9	11,92	18,75	1,23	3,93	5,54

sind. Also nur bei völlig daniederliegender Motilität und Verdauungskraft des Säuglingsmagens könnten die von Zweifel gefundenen Werte möglich werden. Die Ergebnisse der Versuche 5 und 6 zeigen, daß bei völlig daniederliegender Darmverdauung schon die Magenverdauung imstande ist, praktisch alle Aschenbestandteile der Milch in löslicher Form zu überführen. Wenn diese Krankheitsform nur sehr selten vorkommen dürfte, so gehen die Versuche 7 und 8 von der mehr praktischen Annahme aus, daß die Magenverdauung aufgehoben, die Darmverdauung aber noch intakt ist. Hierbei zeigte sich, im schroffsten Widerspruch zu Zweifels Annahme, daß auch bei alkalischer Trypsinverdauung sämtliche Aschenbestandteile der Milch löslich werden, sogar noch vollständiger in Lösung gehen als bei der sauren Pepsinverdauung. Durch den Vergleich mit den Resultaten der vollständigen Verdauungsversuche (9 und 10) ersieht man, daß die alkalische Trypsinverdauung tatsächlich eine fast absolut vollkommene gewesen ist.

Durch besondere Dialysierversuche wurde dann nachgewiesen, daß die bei der alkalischen Trypsinverdauung löslich gewordenen Mineralbestandteile auch dialysierfähig, also resorbierbar waren: die nicht durchgegangene Aschenmenge betrug pro Liter Milch nur 0,048 g mit nur 0,010 g CaO.

Die Resultate dieser Versuche wären also:

Zwischen der Verdaulichkeit der gekochten und der ungekochten Milch bestehen hinsichtlich der Mineralbestandteile keine Unterschiede; das Kochen scheint entgegen einer häufigen Annahme eher befördernd als hindernd auf die künstliche Verdauung einzuwirken. Bei der Labgerinnung wird etwa $^1/_2$ des Kalkes und der Phosphorsäure, $^3/_5$ des Eisens und $^1/_5$ des Magnesiums in Form unlöslicher Verbindungen vom Casein zurückgehalten, während die Alkalien fast vollständig in die Molke übergehen. Der durch Labfällung unlöslich gewordene Kalk kann ebenso wenig wie die anderen Mineralbestandteile als tertiäres Phosphat, wahrscheinlich überhaupt nicht als anorganisches Salz vorhanden sein. Die Kalksalze der verdauten Milch sind sowohl in sauren als in alkalischen Flüssigkeiten löslich und bis auf Spuren dialysabel.

Röse schließt diese Abteilung seiner Versuche mit einem Zitat nach Abderhalden: „Wir gehen gar nicht fehl, wenn wir annehmen, daß jede Kalkverbindung, wenn sie im Darm in eine lösliche Form übergehen kann, resorbierbar und assimilierbar ist." Er selbst neigt dazu, die Calciumverbindungen

der Milch als Kalk-Eiweißverbindungen oder als Kalksalze organischer Aminosäuren aufzufassen.

Ich möchte nochmals ausdrücklich darauf hinweisen, daß Röse wie der verstorbene Lahmann vor ihm in seinen Arbeiten immer wieder zu dem Schlusse kommt, daß den organisch gebundenen Kationen jedenfalls eine unendlich wichtigere physiologische Rolle in der Ernährung als den anorganischen Salzen zukommt. Während Lahmann rein empirisch zu dieser Ansicht kam, kann Röse sich schon in etwas auf seine chemischen Arbeiten stützen, und ich hoffe in meinen bald folgenden Untersuchungen weitere Beweise für die Richtigkeit dieser Ansicht beibringen zu können.

Das negative Eisenhydroxyd.

I. Mitteilung.

Die Darstellung und die Eigenschaften von negativem Eisenhydroxyd.

Von

H. W. Fischer.

(Aus dem physikalischen Institut und der dermatologischen Klinik der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 8. Juni 1910.)

Einleitung.

Bei der Verwendung der von Ehrlich hergestellten Arsenpräparate in der Krankenbehandlung — besonders in der Luetischer — hat sich gezeigt, daß sie zwar eine glänzende therapeutische Wirkung haben, aber leider auch unter Umständen tückisch auftretende, schwere Vergiftungen hervorrufen können.

Die Präparate sind leider für Menschen viel giftiger als für Ratten und Mäuse: Die zur totalen Desinfektion eines Menschen ausreichende Dosis dürfte weit über der letalen liegen. Da man die Therapia sterilisans magna zurzeit nicht allgemein anwenden kann, sucht man sich so zu helfen, daß man viele kleinere Dosen des Mittels im Verlaufe einer längeren Zeit gibt. Das bleibt aber ein höchst unbefriedigender Ausweg: Die Aussicht, den Patienten gründlich zu heilen, ist so nur gering, denn man kann ja niemals eine auch nur entfernt zur wirklichen Desinfektion ausreichende Konzentration erreichen, so daß man — anstatt den Patienten zu heilen, vielleicht nur einen gegen das Medikament relativ festen Stamm von Erregern in ihm züchtet. — Auch wird die Gefahr einer chronischen Vergiftung des Patienten dadurch noch gesteigert, daß durch „langsame Absorption" selbst langsam und schwer resorbierende Organe sich mit dem Gifte sättigen. Übrigens ist man, wie die Erfahrung gelehrt hat, nicht einmal bei Unterdosen vor Vergiftungen sicher. (Atoxylerblindung.)

Nun bleibt ja noch die Hoffnung, daß es dem Genie Ehrlichs gelingen wird, wirklich brauchbare Präparate herzustellen.[1])

Inzwischen könnte man aber noch einen zweiten Weg betreten. Man gibt eine zur schnellen Abtötung der Erreger ausreichende Dosis eines wirksamen, wenn auch giftigen Präparates, macht dann aber — sofort nach beendeter Desinfektion — das Präparat durch ein Gegengift unschädlich.

Die Giftwirkung eines Stoffes hängt doch von zwei Faktoren ab: seiner chemischen Natur und seiner Konzentration. An beiden Punkten kann man mit einer Gegenwirkung angreifen, d. h. entweder seine chemische Natur so verändern, daß er seine Giftigkeit verliert, oder seine Konzentration so weit verkleinern, daß sie unter die toxische sinkt, indem man ihn entweder in eine ausreichend unlösliche Verbindung überführt oder von einem Kolloide adsorbieren läßt. Damit man aber einen Stoff nach Belieben entgiften oder unlöslich machen kann, muß man ihn chemisch ganz genau kennen. Nun ist aber von allen Arsenikalien Atoxyl das einzige, bei dem wir eine angenäherte Vorstellung haben, wie seine Giftwirkung zustande kommt.[2])

Gerade diese schlecht definierten Verhältnisse drängten dazu, die Kolloidadsorption zu verwenden. Die Menge, in der ein Stoff von einem Kolloide adsorbiert wird, hängt, wie es scheint, weniger von seiner chemischen Zusammensetzung als von seinem chemischen Allgemeincharakter ab. Ein Kolloid, das Salzsäure gut adsorbiert, wird also jede starke Säure (z. B. Salpetersäure) wenn auch vielleicht in etwas verschiedenem Grade, so doch immerhin gut absorbieren, während die Löslichkeit der Bariumsalze starker Säuren bekanntlich recht verschieden ist. Da nun Eisenoxydhydrat bekanntlich die Eigenschaft hat, arsenige Säure stark zu absorbieren, so ließ sich vermuten, daß es sich den Ehrlichschen Arsenikalien gegenüber, die ja auch schwache Säuren sind, ähnlich ver-

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Diese Hoffnung hat Ehrlich inzwischen verwirklicht.

[2]) Da nach Ehrlich ein Reduktionsprodukt des Atoxyls das eigentliche Gift zu sein scheint, so müßte man durch Steigerung der Oxydation vergiftete Tiere retten können. Wir haben mit Atoxyl vergiftete Mäuse einige Stunden lang einem Sauerstoffdruck von einigen Atmosphären ausgesetzt, mußten aber, da die Ergebnisse sehr indifferent waren, diese Versuche aufgeben.

halten würde, da diese mit der arsenigen Säure die allgemeinen Eigenschaften, schwache Säuren und arsenhaltig zu sein, teilen. Bunsen, der bekanntlich das Eisenhydroxyd als Gegenmittel gegen die arsenigen Säuren einführte, hat es ja auch teils als Gegengift, teils zu präparativen Zwecken bei seinen späteren Arbeiten über die Kakodylreihe verwandt.[1]) Das Arsenatom zeigt also eine bis zu einem gewissen Grade von der Form der Verbindung, in der es sich gerade befindet, unabhängige Verwandtschaft zum Eisen.

Für mich handelte es sich also um eine Weiterführung der alten Arbeit von Bunsen und Berthold: Das Eisenhydroxyd ein Gegengift der arsenigen Säure (Göttingen 1834).

Freilich dachte Bunsen noch, daß sich eine unlösliche Verbindung aus der arsenigen Säure und dem Eisenoxyd von der Formel $4\,Fe_2O_3 + As_2O_3 . 5\,H_2O$ bildete. Erst Biltz verdanken wir den Nachweis,[2]) „daß das gefällte Eisenoxydhydrat eine Adsorption völlig im Sinne der Theorie van Bemmelens auf das gelöste As_2O_3 ausübt, deren Verlauf sich durch eine stetige, der allgemeinen Gestalt völlig analoge Adsorptionskurve darstellen läßt."[3])

Für Bunsen lagen nun allerdings die Dinge viel einfacher als für uns, da er nur mit einer Vergiftung vom Magendarmkanale aus zu rechnen hatte. Bei uns aber befindet sich das Gift schon in der Blutbahn.

Nun bleibt bei der Einspritzung unter die Haut das Eisenhydroxyd zum großen Teile an der Injektionsstelle liegen, wie mir einige Versuche zeigten. So war ich gezwungen, intravenös zu injizieren. Damit aber verändern sich die Verhältnisse vollkommen, und es treten Komplikationen auf, deren Beherrschung uns viel Mühe kosten wird.

Teil 1.

Das negative Eisenhydroxyd.

a) Theoretische Vorbemerkungen.

Gibt man das Eisenhydroxyd innerlich, so braucht man nicht zu fürchten, daß es im Magen sehr verändert wird, höchstens

[1]) Siehe Oswaldt, Klassiker der exakten Wissenschaften, Nr. 27, Leipzig 1891, S. 16 und 18.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 3140, 1904.

[3]) A. Müller, Allgemeine Chemie der Kolloide, in Bredigs Handb. d. angewandten physikal. Chem. 8, 134, 135 u. 136, Leipzig 1907.

wird es vielleicht durch den sauren Magensaft noch etwas „peptisiert". Bei der intravenösen Injektion aber gerät es in ein sehr verwickeltes System und kann leicht mit den Serumkolloiden reagieren. Die Richtung dieser Reaktion läßt sich nun durch die Überlegungen, die die Kolloidchemie in den letzten Jahren aufgestellt hat, bis zu einem gewissen Grade vorhersehen.

Danach wird das Verhalten eines Kolloides gegen ein zweites oder auch gegen einen gelösten Stoff zunächst durch das Vorzeichen und den Betrag seiner elektrischen Ladung bestimmt. Deutlich aber zeigt sich auch ein gewisser Einfluß der chemischen Natur des Stoffes, aus dem das Kolloid besteht. Ich werde das im folgenden als die Affinität bezeichnen. Nun war es bisher wichtiger, die durch die elektrische Ladung hervorgerufenen Erscheinungen zu studieren, und man hat absichtlich mit chemisch möglichst indifferenten Stoffen, z. B. mit kolloidem Golde gearbeitet, um nicht durch das Übermaß der Verwicklung erdrückt zu werden. Wir sind also über die Affinität nur schlecht unterrichtet.

Besser dagegen sind wir über die Wirkungen der elektrischen Ladung informiert. Daß Kolloide eine elektrische Ladung tragen, läßt sich daraus ersehen, daß sie im elektrischen Strom wandern. Diese Ladungen werden von adsorbierten Ionen getragen. Über die Art, wie das Kolloid zu seinen Ladungen kommt, geben gewisse Überlegungen, bei denen das Kolloidpartikel als eine Salzelektrode aufgefaßt wird, zurzeit den besten Aufschluß.[1])

Wir wollen uns vorstellen, daß die beiden Ionen des Elektrolyten verschieden stark von dem Kolloide adsorbiert werden. Eine Trennung der Ionen im großen Betrage ist wegen der entgegenwirkenden, enormen elektrostatischen Kräfte nicht denkbar, das Kolloid wird also an dem stärker adsorbierten Ion sozusagen unter-, von dem schwächer adsorbierten Ion übersättigt sein. Nur an der Oberfläche können sich die Ionen voneinander trennen, indem sich die stärker adsorbierten im Kolloide, die schwächer adsorbierten unendlich nahe von ihnen im Wasser

[1]) Diese Theorie geht auf eine Überlegung zurück, die von Nernst (Zeitschr. f. phys. Chem. 9, 137, 1892) aufgestellt und die Haber (Annal. d. Physik 4, 26, 927, 1908) mit etwas abweichender Herleitung weiter entwickelt hat. Eine Darstellung der hierher gehörigen Begriffe findet sich bei Leonor Michaelis, Dynamik der Oberflächen, (Dresden 1909, S. 57.) Trotzdem sie unzweifelhaft in der Theorie des Nervs (Nernst, Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 664, 1904; 14, 545, 1908) und des Muskels (Haber, Zeitschr. f. phys. Chem. 67, 385, 1909) eine große Rolle spielen wird, so ist sie doch noch zu wenig entwickelt, um so schwierigen Verhältnissen gerecht zu werden, wie sie hier vorliegen. Besonders vermag sie für die meine ganze Arbeit beherrschende Erscheinung des „Schutzes" keine Erklärung zu bieten; ich habe also darauf verzichtet, die von ihr entwickelten Begriffe einzuführen.

aufhalten. Wird nun die Konzentration des stark adsorbierten Ions sehr verkleinert, oder es gar durch ein gleichfalls stark adsorbiertes, aber entgegengesetzt geladenes neutralisiert, so muß die Beständigkeit des Kolloides durch ein Minimum gehen, d. h. es muß ausfallen.[1])

Nun scheinen aber von allen Ionen H- und OH-Ionen am stärksten adsorbiert zu werden. Titriere ich z. B. eine Aluminiumchloridlösung mit Natronhydroxyd, so wird sich zunächst Aluminiumhydroxyd abscheiden, dann aber eine gewisse Menge von den H-Ionen der durch Hydrolyse entstandenen Salzsäure aufnehmen und als positiv geladenes Kolloid in Lösung gehen. Wird nun bei fortschreitender Titration die Konzentration der Salzsäure gar zu klein, so fällt das Aluminiumhydroxyd wieder aus, um dann später wieder in der alkalischen Lösung OH-Ion zu adsorbieren und als negativ geladenes Aluminiumhydroxyd wieder in Lösung zu gehen, wobei mit wachsender Ladung seine Beständigkeit steigt.

Ähnlich verhält sich z. B. auch Kieselsäure, Chromhydroxyd usw. Eisenhydroxyd geht aber bekanntlich auch bei großer Konzentration der OH-Ionen nicht wieder in Lösung. Seine Affinität zur negativen Ladung ist dazu zu klein.

Ebenso werden sich nun Kolloide gegenseitig aufladen oder entladen. Da nun Serum negativ geladen ist,[2]) Eisenoxyd aber positiv,[3]) so kann es bei der intravenösen Injektion zum Ausfall eines neutralen Serumeisenkolloides kommen, es wird sich ein Blutpfropf bilden, und das Tier wird einem Lungenschlage, einer Embolie, erliegen.

Unsere Aufgabe stellt sich also so dar: Wir müssen zunächst versuchen, uns „negatives Eisenhydroxyd" zu verschaffen. Erst wenn wir dieses in seinem Verhalten dem Serum gegenüber studiert haben, dürfen wir hoffen, mit seiner Hilfe die Arsenvergiftung erfolgreich zu bekämpfen.

b) Die Herstellung negativer Eisenoxydpräparate.

Wir müssen also versuchen, negative Präparate herzustellen, d. h. dem Eisenhydroxyd die Eigenschaft verleihen,

---

[1]) Vgl. hierzu besonders: Bredig, Zeitschr. f. phys. Chem. 33, 385, 1900. — Freundlich, Zeitschr. f. Kolloide 1, 323. — Perrin, Journ. Chem. Phys. 3, 50, 1905. — Bechhold, Zeitschr. f. phys. Chem. 48, 385, 1904; 60, 257, 1907; — auch Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 531, 1905.

[2]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 19, 1909.

[3]) W. Spring, Bull. Acad. Roy. Belg. (3) 35, 780, 19, 1909. — Lottermoser, Anorganische Kolloide, S. 76.

sich in Alkali zu lösen. Das tut es nun leicht bei Gegenwart gewisser vollkommen chemisch wohl definierter und bekannter Stoffe, die im folgenden als der „Schutz" bezeichnet werden.

Artur Müller war wohl der erste, der über den „Glycerinschutz" in alkalischer Lösung systematische Versuche anstellte.[1])

Müller versuchte diejenigen Mengen Salz ausfindig zu machen, die in 5 ccm Wasser gelöst durch 20 ccm Glycerin geschützt, mit 5 ccm Ammoniak keinen Ausfall geben. Er fand dabei, daß sich in 100 ccm des Gemisches von Aluminium, Chrom, Ferri-, einige Zehntel Gramm, von Ferro- und Cerihydroxyd einige Gramm lösen. Nach meinen Versuchen ist das ganz unverhältnismäßig wenig! Müller glaubt hier mit Recht, daß es sich hauptsächlich um eine chemische Wirkung des Glycerins handelt. Er scheint aber später (in der „Chemie der Kolloide" S. 4) von dieser Ansicht zurückgekommen zu sein und glaubt nun, daß in diesem Falle das Medium eine ähnliche Wirkung ausübt, wie die „Schutzkolloide".

Ammoniak ist für die Herstellung negativer Hydroxydhydrosole aus Gründen, die wir später kennen lernen werden, wenig geeignet. Hätte Müller mit Kali- oder Natronlauge gearbeitet, wie Puls oder Grimmaux, so wäre er zu viel interessanteren Ergebnissen gelangt.

Ich stelle meine Präparate folgendermaßen her: Kali- oder Ammoniumhydroxyd sind zu vermeiden, weil sie bei intravenöser Injektion giftig wirken können. Man nimmt also eine bestimmte Menge Natronlauge (z. B. 30 ccm 5 n-NaOH), setzt dazu eine ausreichende Menge (z. B. 20 ccm) Glycerin und läßt nun aus einer Bürette eine Eisenchloridlösung, die z. B. $^2/_3$ $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ n. ist, in das Gemisch hineinlaufen, bis der Grad der Alkalität, den man erzielen will, erreicht ist. Es kommt übrigens wenig darauf an, wie konzentriert die Lösungen oder wie groß die Menge des Glycerins ist, sondern man kann das alles ganz auswählen, wie es einem für die beabsichtigten Versuche am besten paßt. Ebenso darf man, ohne einen Ausfall befürchten zu müssen, weitertitrieren, bis die Lösung gegen Lackmus fast neutral reagiert.

Das überflüssige Kochsalz, Glycerin und Alkali entfernt man so weit durch Diffusion, bis das Präparat die z. B. für

---

[1]) Artur Müller, Versuche über die Löslichkeit von Metallhydroxyden in Glycerin. Zeitschr. f. anorgan. Chem. 43, 320, 1905. — Frühere Arbeiten von J. Puls, Über Metallglyceride. Journ. f. prakt. Chem. (2), 15, 83, 1877. — Grimmaux, Compt. rend. 98, 1344, 1485, 1884.

einen bestimmten Tierversuch gewünschten allgemeinen Eigenschaften angenommen hat.[1])

c) Über die Wirkung des Glycerins.

Die Wirkung des Glycerins ist keineswegs nur auf alkalische Lösungen beschränkt, wie man schon daraus sehen kann, daß, wenn man zu einer gewöhnlichen, sauer reagierenden Eisenchloridlösung etwas Glycerin tut, ihre Farbe etwas dunkler wird. Bei der Titration mit Natronlauge bleibt sie zunächst ganz klar, während eine nicht mit Glycerin geschützte Lösung im Verlauf der Titration immer trüber und trüber wird. Schließlich trübt sie sich sehr rasch — innerhalb einiger Zehntel Kubikzentimeter — und dann erfolgt bei fast neutraler Reaktion der Ausfall. Die Lösung wird auf einmal viel viscöser und scheidet klumpige Flocken ab, die an der Glaswand hängen bleiben. Bei weiterem Basenzusatz bleibt die Lösung während einiger Kubikzentimeter fast neutral, wird dann wieder basisch und dünnflüssiger. Das Eisenhydroxyd löst sich wieder auf.

Wie scharf die Titration ist, zeigen folgende Protokolle: Bei 5 Versuchen, bei denen je 30 ccm einer 0,1 n-Eisenchloridlösung mit 1 n-Natronlauge titriert normal wurden, trat der Ausfall bei 8,1, 8,1, 8,0, 8,1, 8,0 ccm

---

[1]) Ich kann analytische Daten über die Zusammensetzung der in Tierversuchen verwandten Präparate nicht geben. Gerade die beiden wichtigsten Stoffe, das Glycerin und das Alkali sind nur noch in kleinen Mengen vorhanden, und wenn es schon schwer sein dürfte, das nach der Dialyse noch vorhandene Glycerin zu bestimmen, so ist es fast unmöglich, die noch viel wichtigere Anzahl der OH-Ionen (einschließlich der adsorbierten!) festzustellen. (Da die Beschaffenheit eines Präparates auch noch von der Arbeitsweise abhängt, z. B. ob man die Eisenchloridlösung schnell oder langsam einfließen läßt, ob man schnell oder langsam dabei umschwenkt, so muß sich jeder Experimentator die für ihn selbst günstigen Bedingungen aufsuchen. Ich habe immer mit von Kahlbaum bezogenem „sublimiertem Eisenchlorid" gearbeitet, weil sich dieses Präparat erträglich klar und nicht wie „Merck" trübe löst. Will man zuverlässige, hochadsorptionskräftige Präparate herstellen, so muß man dafür sorgen, daß die Lösung wenig Keime von „rotbraunem Kolloid" enthält, die dann bei der Titration „gemästet" werden können. Man darf also nur mit ganz frischen, in der Kälte hergestellten Lösungen arbeiten, oder muß das rotbraune Kolloid auf eine Art entfernen, über die ich gelegentlich der „Effektsynthese des Hämoglobins" Näheres angeben werde.)

ein, schwach basische Reaktion gegen Lackmuspapier bei 9,4, 9,2, 9,2, 9,4, 9,3 ccm. Durch einen geringen weiteren Alkalizusatz wurde das Eisenhydroxyd wieder in Lösung gebracht und dann mit 1 n-Salzsäure zurücktitriert, bis abermals ein Ausfall eintrat. Dieser entsprach einem Gesamt-Alkalizusatz von 8,8, 8,7, 8,8, 8,8, 9,0 ccm. Nun sollten 30 ccm einer 0,1 $Fe^{\cdots}$ n-Eisenchloridlösung 9 ccm Natronhydrat verbrauchen.

Diese Versuche sind in theoretischer Hinsicht nicht ohne Interesse. Ein Kolloid müßte dann ausfallen, wenn seine Ladung 0 wird, d. h. wenn es gerade ebensoviel $H^{\cdot}$- wie OH'-Ionen adsorbiert hat. Da nun die Adsorptionskoeffizienten für $H^{\cdot}$ und OH' verschieden sind, so kann diese Bedingung nur bei einer einzigen Konzentration der Ionen erfüllt sein. Die Lage des Ausfallpunktes müßte somit unabhängig davon sein, ob man von saurer oder alkalischer Lösung ausgeht. Wir finden hier aber zwei Ausfallspunkte, die erheblich auseinander liegen. Der Ausfall muß also schon dann eintreten, wenn die Ladung des Kolloides unter einen gewissen Betrag gesunken ist. Wahrscheinlich nimmt übrigens beim Ausfall aus saurer Lösung das Eisenhydroxyd eine erhebliche Menge Chlor mit.[1])

Will man alkalische Präparate herstellen, tut man besser, wie oben angegeben, zu arbeiten, d. h. man läßt das Eisenchlorid in die glycerinhaltige Natronlauge einfließen. Geht man nämlich von einer sauren Lösung aus, so macht das Präparat am Ausfallspunkte eine Periode recht erheblichen Alters durch, von der es sich später im alkalischen Gebiete nie wieder recht erholt. Auch hier kommt es wieder zu einem scharf bestimmbaren Ausfallspunkte, der von mir immer zur Auswertung der Lösungen benutzt worden ist.

Werden z. B. 8 cm 1 n-NaOH + 10 cm Glycerin mit 0,1 Fe n-Eisenchlorid titriert, so tritt bei 27,0 cm der Ausfall ein. Dieser müßte dann dem vorhin gefundenen „alkalischen Ausfallspunkt" entsprechen.

Nun haben wir vorhin auf 8,8 ccm Natronlauge 30 ccm Eisenchlorid bis zum Ausfallspunkte gebraucht, also genau im selben Verhältnis. Die Lage des alkalischen Ausfallpunktes wird demnach durch die ganz verschiedene Vorgeschichte der Lösungen nicht beeinflußt.

Frägt man nun nach der Ursache dieser merkwürdigen Wirkung des Glycerins, so zeigt sich, daß sie nicht etwa in einer Veränderung des Mediums, etwa einer Erhöhung der inneren Reibung zu suchen ist. — Denn die Schutzwirkung tritt immer noch ein, selbst wenn der Glyceringehalt der Flüssigkeit auf Bruchteile eines Prozentes herabsinkt.

---

[1]) Ich konnte hier auf diese Frage nicht näher eingehen. Sollte sich aber jemand für die Vorgänge im Ausfallspunkte interessieren, so empfiehlt sich zum Studium Aluminiumhydroxyd. Dieses adsorbiert Phenolphthalein stark. Man kann sich so natürlich von der Ladung des Niederschlages leicht überzeugen.

8	ccm	NaOH +	10	ccm	Glycerin	Ausfall	bei 27	ccm
8	„	NaOH +	2	„	„	„	„ 26,9	„
8	„	NaOH +	1	„	„	„	„ 27	„
8	„	NaOH +	0,5	„	„	„	„ 26,6	„
8	„	NaOH +	0,4	„	„	„	„ 26	„
8	„	NaOH +	0,2	„	„	zwischen	25 und 26	„

Bei kleinen Glycerinkonzentrationen ist die Titrationsmethode nicht mehr recht brauchbar, durch die bei jedem neuen Zusatz von Eisenchlorid auftretenden Ausfälle lösen sich immer langsamer wieder auf. So scheint bei einem Gehalt von nur 0,2 ccm Glycerin die Hauptmenge des Eisenhydroxydes erst bei ca. 25,5 auszufallen, doch ist die Lösung schon von der Hälfte der Titration an recht trübe. Immerhin aber kann man schon bei recht kleiner Konzentration des Glycerins das Eisenhydroxyd negativ aufladen. Da nun bekanntlich größere Mengen von Glycerin bei intravenöser Injektion hämolytisch wirken, so ist diese Gefahr leicht zu vermeiden.

Die Schutzwirkung des Glycerins ist ganz unzweifelhaft chemischer Natur, wie man z. B. schon an der Art, wie die Färbung bei der Titration anwächst, erkennen kann. Wenn man eine so stark färbende Substanz wie Eisenhydroxyd in steigender Menge in Wasser löst, wird die Lösung sehr bald so intensiv gefärbt sein, daß sich ein neuer Zusatz nur noch wenig geltend macht. Ein mit Eisenchlorid titriertes Glycerinnatronhydroxyd zeigt aber genau das umgekehrte Verhalten. Die Lösung bleibt während des ersten Drittels der Titration ziemlich schwach gelb, je mehr man sich aber dem Ausfallspunkte nähert, desto rascher nimmt ihre Färbung zu, bis sie schließlich das schöne, tiefe Rubinrot von gelöstem Hämoglobin zeigt. Also in stark alkalischen Lösungen existiert das stark gefärbte kolloide Eisenhydroxyd nicht, sondern wahrscheinlich nur ein farbloses Glycerinat.

Systeme von der Art des hier vorliegenden studiere ich seit vielen Jahren. Gleich sind sie alle darin, daß eine Verbindung durch Hydrolyse aufgespalten wird und in ein Kolloid und eine starke Säure oder Alkali zerfällt. Nur daß hier sozusagen die Stärke des Kolloids als Säure abhängt von der Konzentration des Schutzes. Es kommt im Verlauf der Hydrolyse zwischen Kolloid und Verbindung zu einer Art Gleichgewicht, das sich aber mit steigendem Alter des Kolloides immer mehr zugunsten einer vollständigen Spaltung verschiebt.[1])

[1]) H. W. Fischer, Über positives Eisenoxydhydrat. Zeitschr. f. anorgan. Chem. 66, 1910.

In so schwach alkalischen Lösungen, wie ich sie zu dem in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen verwandt habe, ist ganz zweifellos der allergrößte Teil des Eisens als Hydroxyd im Kolloidzustand.

Dafür spricht außer der sehr typischen und intensiven Eisenhydroxydfarbe die Tatsache, daß bei der Dialyse nur minimale Mengen die Membran passieren. Außerdem wäre gar nicht einzusehen, warum eine in auch sehr schwach alkalischen Lösungen beständige und lösliche Verbindung gerade im Neutralitätspunkt unlöslich werden und ausfallen sollte.

d) Der Hydroxylgruppenschutz.

Wenn wir uns auf den Standpunkt stellen, daß der Glycerinschutz auf chemischer Einwirkung beruht, so muß er durch die chemische Konstitution des Glycerins bedingt sein, d. h. durch die Tatsache, daß Glycerin ein dreiwertiger Alkohol ist. Dann müssen alle mehrwertigen Alkohole, oder weiter auch alle Körper, die mehrere Alkoholgruppen oder auch vielleicht gar noch alle Körper, die mehrere Hydroxylgruppen enthalten, sich als Schutz verwenden lassen. Ein Blick auf die Literatur weist diese Vermutung sofort als gerechtfertigt nach. Spielen doch mit Zucker, Weinsäure, geschützte Präparate seit längerer Zeit eine Rolle.

In dem Verhalten bei der Titration haben wir nun ein Mittel, um einen Schutz auf seine Güte ungefähr einzuschätzen. Je weniger von ihm vorhanden zu sein braucht, um die Titration glatt verlaufen zu lassen, ein um so besserer Schutz ist er. So zeigt sich denn tatsächlich, daß die mehrwertigen Alkohole, soweit sie mir zur Verfügung stehen, alle sehr gut schützen. Z. B. werden wir im Mannit einen Schutz kennen lernen, der dem Glycerin in vieler Hinsicht noch überlegen ist. Auch Erythrit wirkt vorzüglich. Daß die Schutzwirkung übrigens keineswegs von der Anzahl der im Molekül vorhandenen Hydroxylgruppen und der Länge der Kohlenstoffkette abhängig ist, zeigt Rohrzucker, der erträglich, aber noch lange nicht so gut wie Glycerin schützt.

Übrigens ist die Schutzwirkung auch nicht an das Vorhandensein einer geraden Kohlenstoffkette geknüpft, Inosit ist dem Glycerin etwa gewachsen, Fettsäuren an sich schützen nicht, auch wenn ihre Kohlenstoffkette so lang ist, wie die der Ölsäure. Apfelsäure und Citronensäure schützen beide fast gar nicht. Sie enthalten beide bloß ein Alkoholhydroxyl, die vielen Carboxylhydroxyle der Citronensäure scheinen wirkungslos zu bleiben. Dagegen zeigt sich Weinsäure als vielleicht überhaupt die beste mir zurzeit bekannte Schutzsubstanz. Alle diese Substanzen scheinen sich in stark alkalischer Lösung mit Eisenhydroxyd zu

einer Art relativ starker Komplexsäure zu vereinigen, eine Leistung, mit der Eisenhydroxyd nicht vereinzelt dasteht.

Es scheint sich hier vielmehr um einen ganz allgemeinen Fall zu handeln. Ebenso wie mehrere Hydroxylgruppen enthaltene Körper, z. B. das Wasser, eine große Neigung haben, sich zu polymerisieren, so scheint auch zwischen hydroxylgruppenhaltigen Körpern eine große Neigung zur Bildung elektronegativer Komplexe vorhanden zu sein.

Diese Neigung soll die beiliegende Tabelle illustrieren. Sie enthält in den senkrechten Spalten die Schutzsubstanz, in den wagerechten das Element, dessen Hydroxyd geschützt wird. Die in den Carrees eingeschriebenen Namen sind die Namen der Autoren der Arbeiten, aus denen man an dem in der Literaturübersicht angegebenen Orte Näheres über die betreffenden Stoffe erfahren kann. Nur vereinzelt in der Literatur erwähnte Stoffe, z. B. Titanoxyd oder Erythrit konnten natürlich in der Tabelle keinen Platz finden.

Weinsäure	Äpfelsäure	Glycerin	Mannit	Rohrzucker	Fructose	
Rosenheim u. Itzig Großmann	Großmann					Mo.
Hädrich Großmann	Walden	Puls				U.
Großmann Hädrich	Großmann					As.
Großmann Hädrich	Großmann					Sb.
Hädrich Großmann	Pasteur	Jörgensen	Magnanini Herz			B.
Fischer	Großmann	Müller				Al.
?		Co, Ni, Fe } Grün Puls	Fischer	?		Fe.
Fehling Kahlenberg	Kahlenberg	Bullnheimer Puls	Kahlenberg Großmann Grün	Kahlenberg Großmann	Großmann	Cu.
Be. Rosenheim Mg. Fischer					Ba Cu Sr. Tollens u. Schmidt	Erdalkali
Kahlenberg Großmann	Kahlenberg	Kahlenberg	Kahlenberg Großmann	Kahlenberg	Großmann	Pb.
Großmann			Vanino	Großmann	O. Herzfeld	Bi.

H. Hädrich, Zeitschr. f. phys. Chem. 12, 476. — Pasteur, Ann. Chem. Phys. 3, 59, 243. — Gernez, Compt. rend. 104. — P. Walden, Ber. 30, 2889, 1897. — Kahlenberg, Zeitschr. f. phys. Chem. 17, 577. — F. Bullnheimer, Ber. 31, 1453, 1898. — F. Bullnheimer u. C. Seitz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2347, 1899. —

A. Rosenheim u. P. Woge, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 15, 283. — Artur Rosenheim u. Hermann Itzig, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 3424, 1899; 33, 707, 1900. — Itzig, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 1372; 34, 2391, 1901. — Herm. Großmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 1711; 37, 84, 1904; Zeitschr. Ver. Rübenz.-Ind. 1905, 650, 1058; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 3877, 1906; Zeitschr. Ver. Rübenz.-Ind. 1906, 1024; Zeitschr. f. phys. Chem. 57, 533 bis 556; Zeitschr. f. anorgan. Chem. 60, 50. — Gunner Jörgensen, Zeitschr. f. angew. Chem. 5 bis 7, 334, 1897. — Fehling, Liebigs Annal. 72, 106. — W. Herz, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 34, 1903. — Vanino u. Hartl, Chem. Zentralbl. 2, 1108, 1906. — Vanino u. Hauser, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 28, 210, 1901. — Tollens u. Smith, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 1277, 1900. — Ad. Grün u. F. Bockisch, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 3465, 1908. — Magnanini, Zeitschr. f. phys. Chem. 6, 67. — W. Herz u. Knoch, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 45, 262 bis 269. — Dignon, Compt. rend. 78, 148. — Bouchardet, Compt. rend. 80, 120. — D. Klein, Compt. rend. 86, 826; 99, 144. — Senier u. Lowe, Jahrb. 1878, 524. — Frankland, Journ. of the chem. Soc. Febr. 1893. — L. Rosenthaler u. A. Siebeck, Arch. d. Pharm. 241, 479, C. 1903, II, 1025; 246, 51 bis 57. — William Duncau, Pharm. Journ. 20, 71. — Friedrich Auerbach, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 37, 353, 1903. — H. Weith, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 9, 342. — Pelouze, Liebigs Annal. 53, 112. — Strecker, Liebigs Annal. 61, 216. — Madrell u. Engelhardt, Liebigs Annal. 63, 84. — Dosius, Liebigs Annal. 146, 174. — Garzarolli u. Thurnlack, Liebigs Annal. 182, 190.

Aus den zitierten Arbeiten kann man zwei für uns besonders wichtige Tatsachen ersehen: Zunächst lassen sich die aufgezählten Stoffe in eine Reihe ordnen, die lückenlos vom schön ausgebildeten Krystall bis zum Vollkolloid führt. Manche von ihnen sind schön krystallisiert und von wohl definierter Zusammensetzung, andere wieder schon eine Art amorphe Gläser (Grün), daran reihen sich schon unverkenntliche Halbkolloide (Kahlenberg); bei meinen Eisenpräparaten überwiegt in schwach alkalischer Lösung der Kolloidcharakter, bis schließlich das Magnesiumhydroxyd nur noch unter dem Zwange des stärksten mir bekannten Schutzes, der Weinsäure, bei höchster Alkalikonzentration in geringem Maße in Lösung geht.

Dann ist es nicht ohne Interesse, die verschiedenen Stoffe hinsichtlich der Stärke ihrer Schutzwirkung zu vergleichen. Nun findet Kahlenberg, daß z. B. Mannit, Rohrzucker, Glycerin, Weinsäure unter den Versuchsbedingungen über 1 g Kupferhydroxyd aufzunehmen vermögen, während bei Milchsäure, Apfelsäure, Citronensäure nur wenige Hundertstel Gramm in Lösung gehen. Von Bleihydroxyd lösen: Weinsäure, Glycerin,

Erythrit, Mannit, Rohrzucker etwa 3, Citronensäure 2, Apfelsäure 1,5 g Milchsäure. Auch Großmann findet, daß die Tendenz der Apfelsäure zur Komplexbildung mit Bor-, Arsenig- und Antimonigsäure viel geringer ist als die der Weinsäure. Genau dieselbe Reihenfolge in der Stärke der Schutzwirkung ergibt sich aus aus meinen Versuchen. Denn Eisenhydroxyd wird durch Glycerin, Weinsäure, Erythrit, Mannit stark, durch Rohrzucker mäßig, durch Äpfelsäure und Citronensäure kaum mehr geschützt. Also die Substanz, die eins der Hydroxyde wirksam zu schützen vermag, schützt auch jedes andere gut. Ordnet man die Schutzsubstanzen nach ihrer Wirksamkeit an, so ist die Reihenfolge unabhängig von dem geschützten Hxdroxyde.

Dagegen ist die Menge der Komplexverbindung, die sich unter bestimmten Bedingungen bildet, im höchsten Grade von der chemischen Natur des geschützten Hydroxydes abhängig. Eisenhydroxyd z. B. ist schwer zu schützen, denn nur in ziemlich stark alkalischer Lösung kann sich der negative Komplex bilden. Da nun aber die Lösungen, die ich in diesem Teile der Arbeit verwende, immer nur schwach alkalisch sind, so dürften sie nur wenig von der Komplexsäure, dagegen viel negativ aufgeladenes kolloides Eisenhydroxyd enthalten.

Warum nun die Gegenwart von Substanzen, die mit dem Eisenhydroxyd sich zu Komplexsäuren vereinigen können, ihm auch die Fähigkeit verleiht, sich als Kolloid negativ aufzuladen, darüber kann ich keinen Aufschluß geben. Immerhin aber ist der im folgenden beschriebene Versuch in dieser Hinsicht vielleicht nicht ohne Interesse.

Man macht zunächst eine Lösung von weinsaurem Natron gegen Lackmuspapier genau neutral und setzt dann Natronlauge zu. Titriert man nun, wie gewöhnlich, mit Eisenchlorid, so findet man, daß man erheblich mehr Eisenchloridlösung braucht, um den alkalischen Ausfallspunkt zu erreichen, als der Menge der zugesetzten Natronlauge entspricht. Zweifellos wird also das weinsaure Natron in erheblichem Grade gespalten und die Weinsäure von dem Eisenhydroxyd verschluckt. Nimmt man nun an, daß die Komplexsäure, von der ja etwas auch noch in schwach alkalischer Lösung bestehen muß, in Eisenhydroxyd sehr löslich ist, so kann man sich schon ein Bild machen, wie die Weinsäure aus der wässerigen Lösung verschwindet und das Eisenhydroxyd elektronegativ auflädt. Unerklärt bleibt dabei leider die Hauptsache, nämlich warum die Komplexsäure stets so löslich in Eisenhydroxyd, d. h. in ihrer einen Komponente ist.

Ich habe überhaupt bald auf die Hoffnung, die Tatsachen restlos erklären zu können, verzichtet, denn mit jedem Schritt, den man vorwärts tut, steigt die Verwickelung rapide. So habe ich mich denn darauf beschränkt, die Vorgänge experimentell zu beherrschen, ohne einen Versuch zu machen, tiefer in ihre Mechanik einzudringen.

Man kann sich, wie mir meine Erfahrung gezeigt hat, die Beziehung zwischen dem Schutz, der geschützten Substanz und dem Alkali etwa an dem Bilde der Hydrolyse eines Salzes verdeutlichen. Der Betrag der hydrolytischen Spaltung des Salzes einer schwachen Säure mit einer starken Base ist bekanntlich um so größer, je schwächer die Säure dissoziiert und je kleiner die Konzentration der Base ist. Der Zusatz des Schutzes wirkt nun wie die Erhöhung der Verwandtschaft zur negativen Elektrizität, wie eine Vergrößerung der Ionisation. Also kann ich dadurch, daß ich einen möglichst effektiven Schutz in hoher Konzentration anwende, den Charakter des Komplexes weit nach der negativen Seite hinüberschieben. Kann ich aber auf diesem Wege den von mir gewollten Grad der Elektronegativität nicht erreichen, so behalte ich immer noch ein weiteres Mittel in der Hand. Ich kann die Konzentration des Alkalis und damit die Menge des unhydrolysierten Komplexes vergrößern. So kann ich den Schutz „verbessern". Diese Überlegung wird uns bei unseren Versuchen noch erhebliche Dienste leisten.

Über die Eigenschaften des negativen Eisenhydroxyds.

Die schwachen alkalischen Hydrosole sind schöne, klare, mit tief rubinroter Farbe durchsichtige Flüssigkeiten. Man kann sie sehr konzentriert, d. h. mit einem Eisengehalt von einigen Prozenten herstellen. Entfernt man durch lange Dialyse das Alkali oder den Schutz gar zu weit gehend, so gerinnt die Flüssigkeit — vielleicht bei einer Erschütterung — zu einer ebenfalls rubinroten Gallerte, die sich durch Schutz oder Basenzusatz häufig wieder verflüssigen läßt. Schon Gallerten mit einem Gehalt von 1% Eisenhydroxyd sind recht steif. Sie pressen aber schon bei kurzem Stehen Wasser aus. Durch Erwärmen oder Gefrieren wird das Sol gefällt. Gegen seinen bedeutenden Gehalt an Natriumchlorid scheint es relativ unempfindlich zu sein, doch wird es beim langen Stehen etwas unbeständiger.

Die stark alkalischen Lösungen sind deswegen recht interessant, weil in ihnen das Eisen chemisch in einer Art gebunden zu sein scheint, die ihnen mit dem Hämoglobin große Ähnlichkeit gibt. Sie werden durch Wasserstoffsuperoxyd enorm intensiv

blutrot gefärbt, und besitzen die Fähigkeit, unter gewissen Umständen weit mehr als ihr eigenes Volumen beträgt, an Sauerstoff aufnehmen zu können. Durch Schwefelammonium werden sie in Schwefelhämoglobin analoge, durch schöne Absorptionsstreifen ausgezeichnete Verbindungen übergeführt.

Auf diesen Punkt hoffe ich in dem zweiten Teile dieser Arbeit: „Die Effektsynthese des Hämoglobins", demnächst ausführlicher eingehen zu können. Die kurze Erwähnung an dieser Stelle muß der Leser damit entschuldigen, daß wir der hier angegebenen Tatsachen später zur Lösung des Schlußrätsels der hier vorliegenden Arbeit bedürfen werden.

Das negative Eisenhydroxyd.

II. Mitteilung.

Das Eisenhydroxyd und das Serum.

Von

H. W. Fischer.

(Aus dem physikalischen Institut und der dermatologischen Klinik der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 12. Juni 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

a) Das Serum und das positive Eisenhydroxyd.

In der vorigen Mitteilung hatte ich gezeigt, wie man zwei „Stämme" von Eisenhydroxyden, von denen der eine positiv, der andere negativ geladen ist, herstellen kann. Wir dürfen aber nicht vergessen, daß das Eisenhydroxyd eine starke Affinität zur positiven Ladung hat, d. h. eine ziemlich stark basische Substanz ist; es wird also, wenn irgend möglich, sich dem von dem Schutz und dem Alkali ausgeübten Zwange entziehen und sich positiv aufladen.

Mischt man positiv geladenes Eisenhydroxyd mit negativ geladenem Serum, so sind 3 Fälle zu unterscheiden:

1. Zunächst kann die Anzahl der positiven Ladungen bei weitem größer sein als die der negativen, d. h. man fügt eine kleine Menge Serum zu viel Eisenhydroxyd. Hier könnte sich ein positiv geladenes Serumeisenkolloid bilden.[1])

Nach meinen Versuchen aber tritt sowohl bei Pferdeserum wie bei Gelatine an der Eingußstelle sofort ein Ausfall auf.

[1]) Vgl. dazu W. Biltz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 1904. — Außerdem: Bechhold, Zeitschr. f. phys. Chem. 48, 385, 1904. Die Ausflockung von Suspensionen bzw. Kolloiden und die Bakterienagglutination. Dort auch reiche Literaturangabe. — Außerdem: Bechhold, Zeitschr. f. phys. Chem. 60, 257, 1907.

2. Könnten die negativen Ladungen stark überwiegen, d. h. bringt man eine kleine Menge Eisenhydroxyd in Serum, dann könnte ein negativ aufgeladenes Serumeisenkolloid entstehen. Aber auch hier tritt bei Gelatine, unabhängig von der Reihenfolge der Operation und der Menge des vorhandenen Glycerins, stets sofort ein Ausfall auf. Doch kann, wenn man in eine große Menge Serum sehr reichlich durch Glycerin geschütztes, positives Eisenhydroxyd einströmen läßt, der Ausfall zunächst ausbleiben; er tritt dann häufig später ein, so daß es sich hier wohl höchstens um eine Verzögerung handelt. Das ist nun für uns wichtig, da bei intravenöser Injektion die Menge des Serums viel größer ist, als die des Eisenhydroxydes. Wir können aber dabei nach den Reagensglasversuchen mit großer Bestimmtheit einen Ausfall, d. h. eine Embolie erwarten.

3. Mischt man beide Komponenten in dem Verhältnisse, daß sich ihre entgegengesetzten Ladungen etwa neutralisieren, so muß die ganze Masse ausfallen. Das tritt auch tatsächlich ein, und zwar gerinnt sowohl bei Pferdeserum wie bei Gelatine die ganze Masse zu einer zähen Gallerte.

Man darf es also wegen der eminenten Gefahr einer Embolie nicht wagen, positiv aufgeladenes Eisenhydroxyd intravenös zu injizieren. Nun haben zwar Foà und Aggazzotti[1]) zu ihrer eigenen großen Überraschung bei wiederholter Injektion eines positiven Eisenhydroxydpräparates (das übrigens, wie ich mich überzeugt habe, meinen eigenen sehr ähnlich, bloß etwas „älter" ist)[2]) in die Venen eines Hundes niemals eine Embolie beobachtet. Vielleicht liegt hier eine Spezifität des Hundeserums vor. Jedenfalls wurden Kaninchen durch eine solche Injektion stets sofort getötet.

Ebenso gut wie mit Gelatine kann man natürlich positives Eisenhydroxyd mit negativem ausfällen. Das ist zwar selbstverständlich; der Versuch wirkt aber doch überraschend, weil zwei Lösungen, die genau gleich gefärbt sind, denselben Stoff enthalten, miteinander zu reagieren scheinen. In Wirklichkeit reagiert natürlich nicht Eisenhydroxyd mit Eisenhydroxyd, sondern die schützenden Ionen, H resp. OH.

b) Das Serum und das negative Eisenhydroxyd.

Zwei negative Hydrosole dürften sich natürlich nicht gegenseitig ausfällen, weil sich ja ihre Partikeln elektrostatisch ab-

[1]) Über die physiologische Wirkung kolloidaler Metalle. Diese Zeitschr. 19, 1909.

[2]) Für die gütige Übersendung dieses Stoffes bin ich der Firma Heyden zu großem Danke verpflichtet.

stoßen und sich so nicht beeinflussen können. Sollte aber eine so große Affinität zwischen ihnen herrschen, daß sie sich doch adsorbieren, so würde das Mischkolloid verstärkte Ladung tragen. Die beiden Sole müssen sich also schützen. Diese theoretische Vorhersage wird durch meine Reagensglasversuche mit Pferdeserum oder Gelatine aufs beste bestätigt.

Ich glaubte nun natürlich, jetzt im Besitze von Präparaten zu sein, die bei einer intravenösen Injektion glatt vertragen werden würden. Nun ist es notwendig, mit möglichst schwach alkalischen Präparaten zu arbeiten, um das wichtige Gleichgewicht der H- und OH-Ionen im Blute nicht zu stören.

Ich ging also bei der Titration so nahe an den Ausfallspunkt heran, wie nur irgend möglich. Einen gewissen Gehalt von Alkali, den man ausprobieren muß, muß das Präparat behalten, sonst geliert es während der etwa 10stündigen Dialyse, durch die es mit physiologischer Kochsalzlösung ungefähr isoosmotisch wird.

Zu meiner großen Überraschung aber erlagen die Tiere, denen ich dieses Präparat in die Venen spritzte, in wenigen Sekunden einer Embolie. Ich gebe hierfür nur zwei Belege:

Kaninchen Nr. 7 erhält 2,5 ccm alkalische Lösung intravenös. Sofort tot.

Kaninchen Nr. 34 erhält 5 ccm alkalische Lösung intravenös. Sofort tot.

Ich könnte die Liste der Fälle leider sehr verlängern, denn ich mußte aus später ersichtlichen Gründen möglichst mit solchen Präparaten arbeiten, die eben keine Embolie mehr hervorrufen. Wie man solche Präparate herstellen kann, werde ich später angeben. Zunächst aber will ich kurz meine Erfahrungen über die Embolie mitteilen.

Es scheint zunächst unwesentlich zu sein, wie groß die Menge des injizierten Eisenhydroxydes oder seine Konzentration ist. Das ist auch ganz selbstverständlich, denn jede Menge Eisenhydroxyd, die ausreicht, um einen Ausfall hervorzurufen, genügt, um eine Embolie zu machen. Dagegen zeigen die Tiere bis zu einem gewissen Grade individuelle Verschiedenheiten. Es ist mir nämlich wiederholt, wenn auch selten vorgekommen, daß ein Kaninchen eine solche Injektion verträgt, während das nächste, das mit genau derselben Lösung gespritzt wird, sofort umfällt.

Natürlich mußte es nun die nächste Aufgabe sein, herauszufinden, wie dieser Ausfall, diese Embolie zustande kommt. Dazu wurde ein sehr schwach alkalisches Präparat hergestellt.[1]) Bringt man davon nun eine kleine Menge zu viel Serum, so gerinnt das Ganze.[2]) Überwiegt aber die Menge des Eisenhydroxydes, so tritt kein Ausfall ein. Also wird, wenn wenig Eisenhydroxyd auf viel Serum vorhanden ist, ihm durch die Verdünnung oder durch die Serumkolloide das Alkali so weit entzogen, daß es sich umlädt und nun seinerseits mit dem Serum reagiert, etwa so, wie Salzsäure einer kleinen Menge kieselsauren Natrons zuerst das Natrium entreißt und dann die Kieselsäure zwingt, sozusagen die Rolle einer Base zu spielen. Danach müßte sich der Ausfall leicht durch eine Erhöhung der Konzentration des Alkalis oder des Schutzes verhindern lassen.

Wirklich erfolgt er auch viel später, wenn man das Eisenhydroxyd durch Zusatz von 2 ccm 1 n-NaOH auf 100 ccm alkalischer macht, und nimmt man gar 10 ccm NaOH, so bleibt er überhaupt ganz aus. Nun „erholt" sich, wie oben angegeben, ein zu neutrales Präparat bei Erhöhung der Alkalikonzentration nicht sofort wieder. Also muß man bei

---

[1]) Damit der Leser an einem Beispiele sieht, wie man quantitativ bei der Herstellung eines Präparates vorgeht, mache ich hier ausführliche Angaben. Man löst 50 g Eisenchlorid in 500 ccm Wasser. Die Lösung muß dann ungefähr 1,84fach normal sein, was durch eine Titration mit Rhodanammonium — Silbernitrat — bestätigt wird. Titriert man von saurer Lösung aus, unter Glycerinzusatz, so brauchen 30 ccm 9,5 ccm 5 n-NaOH bis zum Ausfallspunkt. Da nun 11,4 ccm Natronlauge nötig wären, um alles Chlor in Natriumchlorid überzuführen, so folgt, daß das Eisenhydroxyd eine reichliche Menge Chlor beim Ausfallen mitnehmen muß. Bei der Titration in alkalischer Lösung verbrauchen 11,3 ccm 5 n-NaOH 30 ccm Eisenchlorid. Der alkalische Ausfallspunkt liegt also dem Punkte, wo alles vorhandene Natriumhydroxyd in Natriumchlorid übergeführt ist, sehr nahe. Das Präparat wird dargestellt aus 30 ccm Glycerin, 40 ccm Natronlauge und 104 ccm Eisenchlorid. (Bei 106 ccm würde der Ausfall erfolgen.) Nun wird es in einer 50 ccm fassenden Hülse 8 Stunden lang dialysieren gelassen. Dabei werden noch 2 ccm Glycerin zugesetzt. Dann reagiert das Präparat kaum noch merklich alkalisch und schmeckt ganz schwach nach Glycerin. Es ist 0,12 n-NaCl und enthält 2,4% Fe_2O_3.

[2]) Man muß zu diesen Versuchen sterilisiertes Serum (Pferdeserum von Paul Altmann in Berlin) verwenden, weil es fast neutral ist. Dagegen ist gewöhnliches Serum immer schon etwas in Verwesung übergegangen, ziemlich stark alkalisch und zeigt infolgedessen die im folgenden beschriebenen Erscheinungen nicht mehr.

Solen, die von vornherein alkalischer gewesen sind, mit viel kleineren Mengen Alkali auskommen, namentlich wenn man auch noch einen recht wirksamen Schutz verwendet.

Auf die Güte eines Schutzes läßt sich nun wieder schließen aus der Zeit, während der er den Eintritt des Ausfalls zu verhindern vermag. Bei den folgenden Versuchen sind die Schutzsubstanzen etwa in gleichen Gewichtsmengen angewandt worden, während unter der Eisenlösung ein durch längere Dialyse fast völlig von Alkali und Glycerin befreites negatives Eisenhydroxydhydrosol zu verstehen ist.

1. 0,5 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum ohne Zusatz gerinnt in 5 Minuten.

2. 1 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum ohne Zusatz gerinnt in 8 Minuten.

3. 0,5 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum + 1 ccm 10%ige Zuckerlösung gerinnt in 13 Minuten.

4. 1 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum + 1 ccm 10%ige Zuckerlösung gerinnt in 28 Minuten.

5. 0,5 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum + 1 ccm 10%ige Mannitlösung gerinnt in 3 Stunden.

6. 1 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum + 1 ccm 10%ige Mannitlösung in $1^1/_2$ Stunden schwach verändert.

7. 0,5 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum + 4 Tropfen Glycerin gerinnt in 30 Minuten.

8. 1 ccm Eisenlösung + 5 ccm Serum + 4 Tropfen Glycerin gerinnt in 40 Minuten.

Zunächst zeigt sich deutlich, wie sehr die stark geschützten Lösungen der Versuche 3 bis 8 den schwach geschützten 1 und 2 überlegen sind. Rohrzucker (3 und 4) zeigt sich wieder als ein recht schlechter Schutz, dagegen scheint der Mannit (5 und 6) dem Glycerin (7 und 8) überlegen zu sein.

Die Reagensglasversuche lehren uns also, daß bei unseren früheren Versuchen unsere Hydrosole zu wenig alkalisch und zu schwach geschützt waren. Wenn wir unsere Lösungen in dieser Richtung verbessern, so muß es uns gelingen, die Zeit, in der der Ausfall eintritt, so weit hinauszuschieben, daß sich das Kolloid längst über die gesamte Blutmenge verteilt hat und nicht mehr genügend große Klumpen bilden kann, um noch eine Embolie hervorzurufen. Eine neue Serie von Tierversuchen hat das auch vollkommen bestätigt. Von den zwei Lösungen, die ich zu den Versuchen verwandte, enthielt die als die „konzentrierte" bezeichnete 5mal soviel Eisen pro Kubikzentimeter wie die „verdünnte". Die „verdünnte" ist aber nicht etwa durch Verdünnung der „konzentrierten" hergestellt worden, sondern aus 5mal verdünnteren Lösungen unter sonstiger Wahrung aller Zahlenverhältnisse. Die „konzentrierte" enthält 2,5% Fe_2O_3. Beide Lösungen wurden so lange dialysiert, bis sie an Kochsalz nur noch 0,1 n-NaCl und deutlich alkalisch waren, enthielten aber nicht mehr wie die übliche Menge Glycerin.

1. Kaninchen Nr. 173, Gewicht 2,21 kg. 1,1 ccm der verdünnteren Lösung. Es tritt keine Embolie ein.

2. Kaninchen Nr. 538, Gewicht 2 kg. 5 ccm der verdünnteren Lösung. Es tritt keine Embolie ein.

3. Kaninchen Nr. 187, Gewicht 2,4 kg, erhält 1,2 ccm der konzentrierteren Lösung. Es tritt keine Embolie ein.

4. Kaninchen Nr. 450, Gewicht 2,1 kg, erhält 5 ccm der konzentrierteren Lösung. Es tritt keine Embolie ein.

5. Kaninchen Nr. 446, Gewicht 1,7 kg, erhält 8 ccm der konzentrierteren Lösung. Es tritt keine Embolie ein.

Diese Versuche zeigen, daß eine Steigerung der Konzentration der Base allein ausreicht, um den Eintritt der Embolie zu verhindern.

c) Die Eisenoxydvergiftung.

Wie meine Versuche zeigen, ist kolloides Eisenhydroxyd ein starkes Gift, nämlich sämtliche Tiere starben bald nach der intravenösen Injektion. Subcutan gegeben ist Eisenhydroxyd selbstverständlich nicht erheblich giftig.

Kaninchen Nr. 173 hat 1 ccm der verdünnten Eisenlösung bekommen, stirbt in 60 Stunden.

Kaninchen Nr. 538 hat 5 ccm der verdünnten Eisenlösung bekommen, stirbt in 50 Stunden.

Kaninchen Nr. 187 hat 1 ccm der konzentrierten Eisenlösung bekommen, stirbt in 36 Stunden.

Kaninchen Nr. 450 hat 5 ccm der konzentrierten Eisenoxydhydratlösung bekommen, stirbt in 36 Stunden.

Kaninchen Nr. 446 hat 8 ccm der konzentrierten Eisenlösung bekommen, stirbt in 12 Stunden.

Bei der Sektion zeigen die Tiere Ergüsse von dünnflüssigem, rotbraunem Blut in der Brust- und Bauchhöhle.

Daß negatives Eisenhydroxyd ein so starkes Gift ist, daß schon $^1/_{100}$ g davon bei intravenöser Injektion ein Kaninchen tötet, hat mich überrascht. Man hält ja allgemein Eisenhydroxyd für einen ungiftigen Stoff, weil Eisenpräparate oft innerlich (namentlich gegen Anämie) gegeben und in den meisten Fällen augenscheinlich recht gut vertragen werden.

Aber dabei wird sicher von den großen Mengen, die in den Magen des Patienten geraten, nur sehr wenig resorbiert. Das Eisenhydroxyd vermag natürlich nicht, die Darmschleimhaut direkt zu durchdringen, da es in den Präparaten wohl meistens als Kolloid enthalten ist, sondern nur kleine Mengen davon werden — wohl in Gestalt irgend einer Verbindung — in einer schon den Verhältnissen des Körpers gut angepaßten Form aufgenommen.

Nun ist die Tatsache, daß Eisenpräparate bei intravenöser Injektion giftig wirken können, keineswegs neu, wie besonders eine Arbeit von H. Meier und F. Williams[1]) zeigt. Die Verfasser finden, daß etwas „alkalisches, weinsaures Eisenoxydnatron", d. h. mit Weinsäure geschütztes negatives Eisenhydroxyd, über dessen Herstellung man leider nichts erfährt, ein sehr starkes Gift ist. Z. B. töten 40 mg 1 kg Kaninchen in 40 Stunden.

Die Giftigkeit unserer Eisenpräparate hat mich bei meinen weiteren Versuchen nicht gestört. Ich will ja nur sehen, ob man ein Gift, das sich schon in der Blutbahn befindet, noch durch einen kolloiden Stoff adsorbieren lassen kann. Da ja nun selbst große Dosen Eisenhydroxyd es erst nach vielen Stunden töten, so kann man natürlich leicht eine viel schneller tödlich wirkende Menge Gift geben. Die Hauptsache ist, ob der Grundgedanke der Arbeit richtig ist. Später kann man ja dann vielleicht die Präparate durch Verbesserung des Schutzes weniger giftig machen, oder überhaupt das Eisen durch einen analogen, aber harmlosen Stoff — z. B. Thoriumhydroxyd — ersetzen.

Durch eine Verbesserung des Schutzes werden die Präparate tatsächlich weniger giftig, wie folgende Versuche zeigen:

10 ccm der konzentrierten Eisenhydroxydlösung werden mit 3 ccm gesättigter Mannitlösung und $^1/_{10}$ ccm $^n/_1$-NaOH gemischt. Davon erhält Kaninchen Nr. 448 im Gewicht von 2 kg 1,3 ccm intravenös.

Das Tier bekommt keine Embolie und lebt mehrere Monate.

Kaninchen Nr. 30 im Gewicht von 1,4 kg bekommt davon 4 ccm intravenös.

Das Tier bekommt keine Embolie, stirbt aber innerhalb 12 Stunden.

Bei der Sektion subpleurale Blutungen und dunkles, flüssiges Blut.

Auf je 10 ccm der verdünnteren Eisenlösung wird 0,1 ccm $^n/_1$-NaOH und 1 ccm gesättigte Mannitlösung zugesetzt. Davon bekommt Kaninchen Nr. 193 im Gewicht von 2,7 kg 1,1 ccm.

Das Tier bekommt keine Embolie und stirbt nach etwa 6 Wochen an der Lungenseuche.

Kaninchen Nr. 459 im Gewicht von 1560 g erhält 4 ccm.

Es tritt keine Embolie ein, aber das Tier stirbt in 2 Tagen.

Der Sektionsbefund ergibt Blut in der Bauch- und Brusthöhle. Nach diesen Versuchen sollte man vermuten, daß man durch eine Verbesserung des Schutzes leicht die Giftigkeit von Eisenpräparaten sehr herabsetzen kann.

Anhang über einen Apparat zur Schnelldialyse.

Da ich während der Arbeit viele Präparate durch Dialyse reinigen mußte, war es natürlich wichtig, die hierfür nötige Zeit möglichst zu verkürzen. Dazu muß natürlich die Oberfläche des Dialysators groß

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **18**, 72, 1881. Auf diese Arbeit muß auch für die ältere Literatur, die dort wohl ziemlich vollständig zitiert ist, verwiesen werden.

gegen einen Inhalt sein, eine Bedingung, die dann, wenn man mit Schleicher und Schüllschen Hülsen arbeitet, gut erfüllt wird. Dann muß das Konzentrationsgefälle so möglichst steil sein. Bringt man nun eine Hülse in ein mit Wasser gefülltes Becherglas, so wird sich schon nach kurzer Zeit außerhalb der Hülse ein Konzentrationsgefälle ausbilden, wobei die Konzentration in unmittelbarer Nähe der Wand vielleicht nicht viel kleiner ist wie innen in der Hülse. Das heißt die Strecke, auf der der Konzentrationsabfall von C bis 0 stattfindet, wird bald den Betrag von einigen Zentimetern erreichen. Wird aber die Hülse von einem nur sehr wenig größeren Glase umschlossen, durch das beständig reines Wasser fließt, so findet der Konzentrationsabfall von C auf 0 in der Wandung der Hülse statt. Die Konzentration fällt dann sehr steil ab.

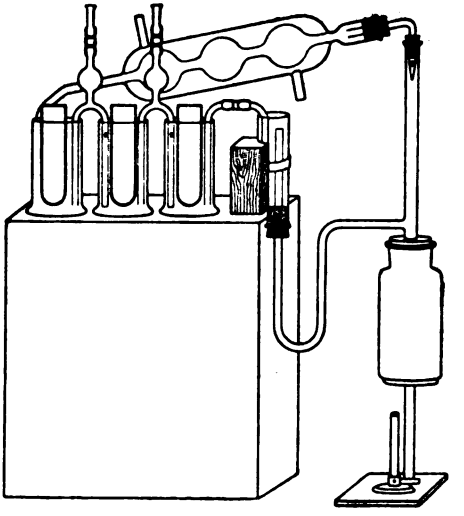


Fig. 1.

Wie ich das erreicht habe, ist aus der Fig. 1 wohl ohne weiteres ersichtlich. Heber verbinden die einzelnen Diffusionszylinder miteinander, diese haben oben ein Luftsammelgefäß und sind mit einem Zwickventil, das ein bequemes Ansaugen gestattet, verschlossen.

Dem Apparat kommt ein gewisses theoretisches Interesse zu. Rührt man nämlich im Innern der Hülse, so fällt die Bildung eines inneren Diffusionsgefälles weg, man macht im Innern die Diffusionsgeschwindigkeit sozusagen unendlich groß. Außen ist die Konzentration konstant gleich 0. Der ganze Diffusionsvorgang spielt sich also in der Membran ab. Mit ähnlich angeordneten Apparaten müßte man also — da die rechnerische Behandlung außerordentlich einfache Form annimmt — die Vorgänge in der Membran bei Diffusion studieren können.

Studien in der Chlorophyllgruppe.

Von

L. Marchlewski.

VII. Mitteilung.

Über Chlorophyllan, Allochlorophyllan und Chlorophyllpyrrol.

Von

H. Malarski und L. Marchlewski.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften in Krakau.)

(Eingegangen am 10. Juni 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

Auf Grund der vergleichenden Versuche, die der eine von uns z. T. in Gemeinschaft mit Hildt und Robel ausgeführt hat, konnte der Schluß gezogen werden, daß die in der Literatur unter dem Namen Chlorophyllan, Phyllogen und Phäophytin beschriebenen Produkte identisch sind. Daraufhin wurde vorgeschlagen, die beiden letzten Namen fallen zu lassen und nur den historisch älteren, Chlorophyllan, für das erste Umwandlungsprodukt des Chlorophylls unter dem Einfluß von Säuren beizubehalten. Willstätter[1]) billigt diesen Vorschlag jedoch nicht; das Verhältnis des Phyllogens zum Phäophytin wird von ihm allerdings nicht besprochen, aber den Namen „Chlorophyllan" will er für ein Produkt reserviert wissen, das phosphorhaltig ist, und das aus dem Chlorophyll „freiwillig" entstehen soll. Demgegenüber ist hervorzuheben, daß ein Produkt mit den spektralen Eigenschaften des Hoppe-Seylerschen Chlorophyllans aus Chlorophyll unter keinen Umständen spontan hervorgehen kann, auch hat unseres Wissens niemand eine solche Umwandlung bemerken können, während umgekehrt Untersuchungen vorliegen, die beweisen, daß die Chlorophyllan-

[1]) Handb. d. biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden, 1910.

bildung auf die Wirkung der in den Pflanzenteilen vorhandenen Säuren zurückzuführen ist.[1])

Das einzige Argument für die Annahme von Willstätter beruht demnach auf der früheren Analyse von Hoppe-Seyler; indessen wurde gezeigt,[2]) daß bei Befolgung der Vorschrift des genannten Forschers ein Körper entsteht, der nach entsprechenden Reinigungsprozessen aschefrei zu erhalten ist. Überhaupt erscheint es im Lichte der jetzigen Forschungsresultate als bewiesen, daß Chlorophylle, wie sie durch Extraktion mit Alkohol oder anderen indifferenten Stoffen erhalten werden, niemals phosphorhaltig sind, obwohl phosphorfreie Präparate in manchen Fällen erst nach sehr mühevollen Reinigungsoperationen zu gewinnen sind. Dieser Umstand, auf den später in einer mit Herrn A. Oszacki ausgeführten Arbeit zurückzukommen sein wird, erklärt, warum es Stoklasa nicht gelingen wollte,[3]) phosphorfreie Chlorophyllpräparate zu erhalten. Daß die Analyse von Präparaten älterer Chlorophyllforschungen, die die ersten Schritte auf diesem überaus schwierigen Gebiete bilden, übrigens auch für Willstätter unter Umständen nicht bindend sind, folgt daraus, daß er Hoppe-Seyler zu den Mitentdeckern des Phylloporphyrins zählt, obwohl letzterer diese Substanz stickstofffrei fand.

Die Identität der unter dem Namen Chlorophyllan, Phyllogen und Phäophytin bekannten Substanzen wurde früher an Hand identischer Analysenresultate und des gleichen spektroskopischen Verhaltens sowohl im sichtbaren als auch im unsichtbaren Spektrumteil behauptet. Da es jedoch nicht ausgeschlossen war, daß trotz der Identität der Analysenresultate und des optischen Verhaltens geringere Unterschiede in den großen Molekülen vorhanden sein konnten, deren Bestehen die angewandten Methoden nachzuweisen nicht imstande waren, so wurden noch nachträglich in Phyllogen- und Phäophytinpräparaten, die denselben Pflanzen entstammten, jetzt noch die Methoxylwerte sowie Phytolwerte, und endlich auch die Analysen der erhaltenen Phytole ausgeführt. Es hat sich ergeben, daß auch in diesen Richtungen Phyllogen vom Phäophytin nicht zu unterscheiden war.

[1]) Vgl. Tschirch, Untersuchungen über Chlorophyll, Berlin 1884.

[2]) Bull. d. l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1908, 274.

[3]) Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 26, 69, 1908.

Eine andere Frage von Wichtigkeit, die sich auf das Umwandlungsprodukt des Rohchlorophylls unter dem Einfluß von Säuren bezieht, ist die nach seiner Einheitlichkeit. Nach den Versuchen von Willstätter ist das Phäophytin insofern einheitlich, als „es homogene Chlorophyllsubstanz" ist.[1]) Wie wir früher[2]) gezeigt haben, läßt sich zeigen, und zwar in Übereinstimmung mit früheren Versuchen, die der eine von uns mit C. A. Schunck ausgeführt hat, daß Chlorophyllan insofern nicht einheitlich ist, als es in vielen Fällen als Gemisch zweier Chlorophyllane anzusehen ist, von denen das eine kurzweg als Chlorophyllan, das andere als Allochlorophyllan bezeichnet wurde. Als besonders gutes Ausgangsmaterial zur Darstellung des letzteren wurden Ahornblätter, die von jungen Pflanzen, die als Unterwuchs gesammelt wurden, stammen. Die diesbezüglichen früheren Versuche konnten wir jetzt mit etwas größeren Mengen des Rohmaterials wiederholen. Es gelang wenigstens so viel des Allochlorophyllans darzustellen, daß eine Analyse und der Methoxylwert bestimmt werden konnte. Endlich geben wir in der vorliegenden Abhandlung noch den bis jetzt fehlenden analytischen Beweis,[3]) daß Chlorophyllpyrrol denselben Azofarbstoff mit Benzoldiazoniumchlorid liefert, den der eine von uns aus dem Hämopyrrol gewinnen konnte.

Phyllogen und Phäophytin.

Über die Darstellung des Chlorophyllans nach der Methode von Schunck[4]) bezüglich des einen von uns[5]) informieren die früheren Publikationen. Das zum Vergleich angewandte Phäophytin wurde nach der Methode von Willstätter[6]) unter Anwendung von Oxalsäure erhalten. In beiden Fällen wurden getrocknete Brennesselblätter angewandt, die in der Umgegend von Krakau gesammelt wurden. Außerdem gelangte zur Verarbeitung ein Material, das aus Litauen stammte.

Die Verseifung beider Präparate, die nach der beim Phylloxanthin von Schunck angewandten Methode gereinigt wurden,

[1]) Liebigs Annalen 371, 16, 1909.
[2]) Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1909, 557.
[3]) Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1909, 555.
[4]) Proc. Roy. Soc. 44, 306, 1888.
[5]) Vgl. Die Chemie der Chlorophylle usw., Braunschweig 1909.
[6]) Liebigs Annalen 354, 205, 1907.

indem ihre konzentrierten chloroformischen Lösungen mit Alkohol gefällt werden, geschah in der Kälte mit methylalkoholischer 10%iger KOH-Lösung. Die Isolierung des Phytols geschah durch einfache dreimalige Extraktion des alkalischen Verseifungsgemenges mit Äther im Scheidetrichter.

Die ätherische Lösung wurde durch Ausschütteln mit Wasser, dann mit konzentrierter Salzsäure, wiederum mit Wasser gereinigt, durch Tierkohle entfärbt und endlich eingedampft. Die Mengenverhältnisse werden in beiden Fällen genau gleichartig innegehalten.

Aus 15 g Phyllogen erhielten wir 3,32 g Rohphytol,
„ 15 g Phäophytin „ „ 3,53 g „
d. h. im ersten Falle 22,13%, im zweiten 23,53%.

Das Phytol wurde zunächst bei gewöhnlichem Druck auf dem Wasserbade getrocknet, sodann während mehrerer Wochen im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure.

Phytol aus Phyllogen gab bei der Analyse folgende Werte:
0,1146 g: 0,3400 g CO_2 und 0,1436 g H_2O, entsprechend 80,92% C und 14,10% H.

Phytol aus Phäophytin gab:
0,1197 g: 0,3558 g CO_2 und 0,1472 g H_2O, entsprechend 81,07% C und 13,76% H.

Die obigen Werte sprechen für die Identität beider Phytole; dieser Schluß wird noch dadurch erhärtet, daß die Brechungswinkel beider, im Pulfrichschen Refraktometer gemessen, annähernd gleich gefunden wurden (Prisma Ia dessen $N_D = 1{,}62100$):

Temp. 18,5°.

Phytol aus Phäophytin
für H_α . . 42° 18'[1])
„ H_β . . 43° 57'
„ H_γ . . 45° 00'

Phytol aus Phyllogen
für H_α . . 42° 30'
„ H_β . . 44° 13'
„ H_γ . . 45° 15'

Ebenfalls übereinstimmend sind die Methoxylwerte beider Substanzen:

[1]) Die Brechungsindices anzugeben hielten wir für verfrüht, da das Phytol in undestilliertem Zustande untersucht wurde.

0,3400 g Phäophytin gaben 0,1015 g AgJ, entsprechend 3,94% OCH_3,

0,3427 g Phyllogen gaben 0,1061 g AgJ, entsprechend 4,09% OCH_3.

Zum Vergleich mit Präparaten früherer Darstellungen seien noch Analysen des in diesem Falle angewandten Phyllogens angeführt:

0,1330 g gaben 0,3600 g CO_2 und 0,1047 g H_2O, entsprechend 73,82% C und 8,81% H,

0,1017 g gaben 0,2765 g CO_2 und 0,0824 g H_2O, entsprechend 74,15% C und 9,06% H,

0,1014 g gaben 6,5 ccm N, t = 18, b = 747 ccm, entsprechend 7,24% N.

Die neben dem Phytol entstehenden Chlorophyllansäuren verhielten sich durchaus analog. Nach der Methode von Willstätter fraktioniert ergaben sich identische Produkte verschiedener Basizität. Über einige derselben soll später noch genauer berichtet werden. Hier begnügen wir uns, darauf aufmerksam zu machen, was übrigens auch von Willstätter bereits hervorgehoben wurde, daß die Chlorophyllansäuren nicht immer von denselben Eigenschaften erhalten werden. Der genannte Forscher hat mit Mieg[1]) ein Phytochlorin *d* beschrieben, das von 1%iger Salzsäure aufgenommen wird und das sich dadurch auszeichnet, daß es in Wasser mit violetter Farbe löslich ist; Spuren von Salzsäure heben diese Wasserlöslichkeit auf, und der Farbstoff wird vollständig von Äther aufgenommen. Die Zusammensetzung dieses Produktes wurde durch folgende Analysenwerte charakterisiert: C: 66,10%, H: 6,83% und N: 8,05%.

Wir erhielten eine Chlorophyllansäure, deren Eigenschaften ziemlich von denen des Phytochlorins *d* verschieden sind. Sie wird zwar ebenfalls von 1%iger Salzsäure aufgenommen, löst sich aber nicht in Wasser. Die salzsaure Lösung hat violettblaue Farbe, die alkoholische eine grünliche. 3 ccm einer Lösung in 10%iger NaOH-Lauge wurden mit 200 ccm Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther färbte sich hierbei kaum an, obwohl eine Spur des Farbstoffs von Äther gelöst

[1]) Liebigs Annalen 350, 1, 1906.

wird, da die Lösung, spektroskopisch untersucht, eine Spur eines Bandes im Rot aufwies. Das Phytochlorin *d* verhält sich unter analogen Umständen anders; aus stark verdünnter alkalischer Lösung wird es durch Äther entzogen, und die ursprüngliche grüne alkalische Lösung wird beim Verdünnen violett.

Beim Trocknen bei 110° wird unser Präparat schwer löslich in Äther und schwächer basisch; von 1%iger Säure wird es nicht aufgenommen. Aus Alkohol kann es gut krystallisiert werden, wobei Krystallschuppen erhalten wurden, die in durchfallendem Licht braun erscheinen. Auch in bezug auf die Zusammensetzung unterscheidet sich unser Präparat ziemlich bedeutend von dem Phytochlorin *d*. Wir erhielten:

a) 0,1059 g gaben 9,6 ccm N bei t = 18,5, b = 742, N = 10,14%,
b) 0,1028 g „ 9,1 ccm N bei t = 17,5, b = 738, N = 9,90%,
c) 0,0970 g „ 0,0757 g H_2O, 0,2447 g CO_2, entsprechend 68,80% C und 8,73% H,
d) 0,1029 g gaben 0,0772 g H_2O, 0,2598 g CO_2, entsprechend 68,86% C und 8,39% H.

Im Mittel enthält also unser Präparat 68,83% C, 8,59% H und 10,02% N.

Dasselbe Produkt wurde übrigens, unter denselben Verhältnissen, auch aus dem Phäophytin erhalten.

Bekanntlich gelang es einem von uns,[1]) nachzuweisen, daß Chlorophyllan leicht in Phyllotaonin bzw. Allophyllotaonin übergeführt werden kann, wenn man es zuerst durch Behandlung mit $Zn(OH)_2$ und Kohlensäure in Zinkchlorophylle umwandelt, letztere durch Alkalien verseift und die Zinkprophyllotaonine der Wirkung von Säuren unterwirft. Die entsprechenden Zinkverbindungen wurden dann später von uns gemeinschaftlich[2]) untersucht, wobei es noch unentschieden blieb, ob bei der Bildung der Zinkchlorophylle nur eine Anlagerung des Zinks stattfindet oder ob gleichzeitig Phytol- oder Methoxylgruppen abgespalten werden. Diese Lücke können wir jetzt ausfüllen. Unsere Versuche sprechen dafür, daß bei dem geschilderten Vorgange tatsächlich weder Phytol noch Methyl abgespalten wird.

Ein Zinkchlorophyll, das aus Chlorophyllan der Brennesselernte 1908 hergestellt war, wurde in folgender Art verarbeitet:

[1]) Diese Zeitschr. 16, 3, 1909.
[2]) Diese Zeitschr. 21, 523, 1909.

1,94 g wurden in 100 ccm Äther gelöst und die Lösung mit 30 ccm 10% KOH in Methylalkohol versetzt. Nach 24stündigem Stehen in der Kälte wurde mit 500 ccm Wasser versetzt und mit Äther erschöpft. Die ätherische Lösung gab nach dem Waschen mit Salzsäure und Wasser, Entfärben mit Tierkohle und Eindampfen 0,48 g eines nahezu farblosen Öles, das während mehreren Wochen bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet wurde. Analysiert gab dasselbe folgende Zahlen:

0,1144 g gaben 0,3391 g CO_2 und 0,1365 g H_2O entsprechend 80,84% C und 13,35% H.

In ähnlicher Weise wurde ein Zinkchlorophyll, das mit Hilfe von im Jahre 1909 gesammelten Brennesseln dargestellt war, verarbeitet. Auf 3,84 g kamen zur Anwendung 150 ccm Äther und 50 ccm 10% KOH im Methylalkohol. Erhalten wurden 0,99 g Phytol, d. h. 25,7%. Refraktometrisch untersucht gab dieses Präparat folgende Werte bei 20°:

H_α . . . . 42° 30′
H_β . . . . 44° 12′

In demselben Zinkchlorophyllapparat wurde der Methoxylwert bestimmt:

0,3581 g gaben 0,0852 g AgJ entsprechend 3,14% OCH_3
0,3431 „ „ 0,0878 „ „ „ 3,38 „ „

sowie auch der Zinkgehalt:

0,6526 g gaben 0,0456 g ZnO entsprechend 6,99% ZnO oder 5,64% Zn.

Berücksichtigt man weiterhin den N-Gehalt nach früheren Analysen, so ergibt sich das Atomverhältnis:

$$Zn : N : (OCH_3) = 1{,}29 : 4 : 1{,}07.$$

Erwähnt sei noch, worauf später zurückzukommen sein wird, daß dem Zinkchlorophyll, das aus Chlorophyllan und $Zn(OH)_2 + CO_2$ dargestellt wurde, sich ein Produkt ganz analog verhält, das durch Erwärmen einer eisessigsauren Chlorophyllanlösung mit Zinkacetat zu gewinnen ist. Aus 2,1 g dieser Verbindung wurden 0,45 g Phytol erhalten, das bei 19° die folgenden refraktometrischen Werte ergab:

H_α . . . . 42° 12′
H_β . . . . 44° 0′

Allochlorophyllan.

Den früher[1]) gemachten Angaben bezüglich der Darstellung des Allochlorophyllans haben wir nichts Wesentliches zuzufügen. Es gelang uns bis jetzt noch nicht, die Methode zu verbessern, und die Ausbeuten an einigermaßen reinem Produkt sind daher immer sehr gering, obwohl, wie gezeigt werden soll, es wahrscheinlich ist, daß die Menge des Allochlorophyllans in manchen Rohchlorophyllanpräparaten ziemlich bedeutend sein kann.

Um eine Idee in bezug auf das Verhältnis der Zusammensetzung des Allochlorophyllans zum eigentlichen Chlorophyllan zu erhalten, haben wir verschiedene Präparate des Rohchlorophyllans, das nach der Schunckschen Art gereinigt war, von neuem analytisch untersucht und gleichzeitig das aus diesem dargestellte Allochlorophyllan. Ahornblätterchlorophyllan, das im Jahre 1907 dargestellt war, besaß durchschnittlich die folgende Zusammensetzung C: 74,70, H: 8,77, N: 5,50%. Die Ernte des vorigen Jahres gab ein etwas abweichendes Produkt. Bei der Analyse von im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Präparaten wurden erhalten:

a) 0,1133 g, 0,3145 g CO_2, 0,0981 g H_2O; 75,70% C, 9,69% H;
b) 0,1643 g, 8,6 ccm N, $t = 743$ mm, $t = 16°$; 5,93% N;
c) 0,1101 g, 0,3049 g CO_2, 0,0898 g H_2O; 75,53% C, 9,12% H;
d) 0,1047 g, 0,2922 g CO_2, 0,0863 g H_2O; 76,12% C, 9,22% H;
demnach durchschnittlich C: 75,78%, H: 9,34%, N: 5,93%.

Methoxylbestimmungen ergaben:

a) 0,2895 g 0,0585 g AgJ entsprechend 2,67%
b) 0,2615 „ 0,0554 „ „ „ 2,80 „

Das Allochlorophyllan ergab abweichende Werte. Zur Untersuchung konnte leider vorläufig nur ein einziges Präparat gelangen, und zwar im nicht krystallisierten Zustande, denn, obwohl das Allochlorophyllan bekanntlich krystallisiert werden kann, so sind die beim Krystallisationsprozeß eintretenden Verluste derartig bedeutend, daß wir es vorzogen, uns jetzt nur mit Annäherungswerten zu begnügen. Das Präparat wurde mehrere Wochen über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet; Gewichtskonstanz wurde übrigens bereits nach 5 Tagen erreicht:

[1]) Diese Zeitschr. 21, 529, 1909.

a) 0,1049 g gaben 0,2848 g CO_2 und 0,0803 g H_2O entsprechend 74,04% C und 8,56% H,

b) 0,0993 g gaben 0,2695 g CO_2 und 0,0751 g H_2O entsprechend 74,02% C und 8,46% H,

c) 0,0998 g gaben 5,1 ccm N, t = 17°, b = 740; N = 5,74%

d) 0,1038 „ „ 5,5 „ N, t = 16°, b = 743; N = 6,01 „

Eine Methoxylbestimmung ergab:

0,2656 g gaben 0,0408 g AgJ entsprechend 2,03% OCH_3.

Die wichtige Frage, ob Allochlorophyllan phytolhaltig ist, konnte vorläufig, des Mangels an Material wegen, nicht entschieden werden.

Den früheren Beobachtungen bezüglich des Allochlorophyllanspektrums wollen wir hier einige Messungen über die Lage der drei Bänder im Ultraviolett beifügen. Dieselben beziehen sich auf Lösungen unbestimmter Konzentration und sollen demnächst, anläßlich neuer spektrocolorimetrischer Studien verschiedener Chlorophyllderivate im ganzen Spektrumbereiche ergänzt werden. Das am stärksten gebrochene Band erscheint nur undeutlich und konnte nur in einer Schichtendicke einigermaßen genau gemessen werden:

	Band III	Band II	Band I
5 mm Schicht	—	410,0—412,5	432,0—437,0
7,5 „ „	—	405,0—414,5	429,0—438,0
10 „ „	—	403,5—417,0	425,0—441,0
12,5 „ „	364,0—376,5	401,5—420,0	423,0—446,0
15,0 „ „	—	400,0	448,0
17,5 „ „	—	397,5	450,0

Was die Menge des Allochlorophyllans im untersuchten Rohchlorophyllan anbelangt, so läßt sie sich wie folgt annähernd schätzen. Nimmt man an, daß das Rohchlorophyllan der Ahornblätter neben Allochlorophyllan dasselbe Chlorophyllan enthält, das die überwiegende Hauptmasse des Chlorophyllans der Brennesselblätter bildet, und berücksichtigt, daß letzteres ca. 4% OCH_3 enthält, während Allochlorophyllan ca. 2% OCH_3 enthält, dann folgt, daß Rohchlorophyllan der Ahornblätter mit einem Gehalt von ca. 2,8% OCH_3, aus etwa 63% Chlorophyllan und 37% Allochlorophyllan besteht.

Endlich mögen hier noch einige spektrocolorimetrische Daten folgen, die dartun, daß Chlorophyllane einer und der-

selben Pflanzenart (Brennessel) in gewissen Grenzen variieren können, und daß die auf chemischem Wege entdeckten Unterschiede zwischen Chlorophyllan der Brennessel- und der Ahornblätter auch auf physikalischem Wege demonstriert werden.

In jedem Versuche wurde 1 g des Chlorophyllans in 500 ccm Chloroform gelöst und sodann ein kleines Volum der Lösung mit dem dreifachen Volum desselben Lösungsmittels versetzt. 1 mm dicke Schichten wurden dann mit Hilfe des König-Martensschen Apparates spektrocolorimetrisch gemessen, und zwar im gelben, grünen und blauen Hg-Licht der Heraeusschen Quecksilberlampe.

I. Chlorophyllan aus Brennesseln (1909), gesammelt in der Umgegend von Krakau:

Hg-gelb $\alpha_1 = 93{,}35°$, $\alpha_2 = 64{,}95°$, $E = 2{,}2163$
Hg-grün $\alpha_1 = 105{,}70°$, $\alpha_2 = 52{,}45°$, $E = 4{,}2793$
Hg-blau $\alpha_1 = 102{,}05°$, $\alpha_2 = 57{,}10°$, $E = 3{,}5643$

Ausbeute an einmal gereinigtem Chlorophyllan 5,66‰.

II. Chlorophyllan aus Brennesseln (1909), gesammelt in Litauen:

Hg-gelb $\alpha_1 = 92{,}20°$, $\alpha_2 = 65{,}90°$, $E = 2{,}0499$
Hg-grün $\alpha_1 = 106{,}95°$, $\alpha_2 = 51{,}85°$, $E = 4{,}4364$
Hg-blau $\alpha_1 = 102{,}70°$, $\alpha_2 = 55{,}85°$, $E = 3{,}7267$

Ausbeute an einmal gereinigtem Chlorophyllan 6,34‰.

III. Chlorophyllan aus Ahornblättern junger Pflanzen (1909):

Hg-gelb $\alpha_1 = 91{,}50°$, $\alpha_2 = 66{,}00°$, $E = 1{,}9885$
Hg-grün $\alpha_1 = 104{,}10°$, $\alpha_2 = 52{,}60°$, $E = 4{,}1405$
Hg-blau $\alpha_1 = 98{,}60°$, $\alpha_2 = 59{,}55°$, $E = 3{,}0785$

Ausbeute an einmal gereinigtem Chlorophyllan 0,33‰.

Die erhaltenen Werte sind zur Konstruktion der S. 256 angeführten Kurven (Fig. 1) verwendet worden, die ohne weiteres verständlich sind.

Chlorophyllpyrrol = Hämopyrrol.

Der eine von uns hat mit Barabasz[1]) gezeigt, daß das Chlorophyllpyrrol dieselben zwei charakteristischen Azofarbstoffe

[1]) Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1909, 555.

liefert, die aus dem Hämopyrrol erhalten wurden. Analysen konnten damals nicht ausgeführt werden. Die Mittel meines Laboratoriums sind eben sehr dürftig, und es dauert daher unverhältnismäßig lange, bis gewisse begonnene Arbeiten zum Abschluß gelangen können. Wir sind jetzt in der Lage, Analysen wenigstens eines der beiden Farbstoffe zu geben. Als Ausgangsmaterial für die Darstellung des Chlorophyllpyrrols wurde diesmal Chlorophyllansäure angewandt, die durch Verseifung in der Kälte von Chlorophyllan aus Brennesselblättern gewonnen wurde.

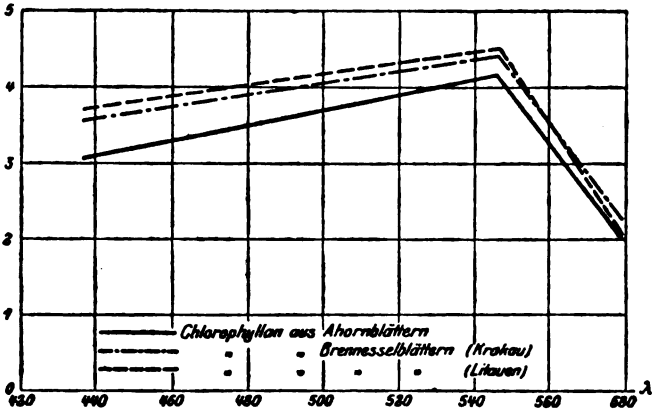


Fig. 1.

Je 5 g des bei 100° getrockneten Produktes wurden bei Wasserbadtemperatur in 100 ccm Eisessig gelöst und mit 52 ccm Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,9) versetzt. Diese Lösung wurde nach dem Zusatz der Jodwasserstoffsäure grün, bald darauf braun, und nun wurde nach und nach Jodphosphonium zugesetzt. Die ersten Zusätze des letzteren verursachten einen Farbenumschlag in Rotbraun. Diese Farbe verschwand alsbald, einer gelb-orangen Platz machend. Im ganzen wurden 9 g Jodphosphonium verbraucht. Die saure Lösung wurde dann zu 300 ccm Wasser, in dem 100 g NaOH gelöst waren, gegeben, nach dem Verbinden des Destillierapparates mit dem Kühler wurden noch weitere 200 ccm 20% NaOH-Lösung zugesetzt und im Kohlensäurestrom destilliert. Im ganzen wurden 400 ccm Wasser abdestilliert, wonach eine Probe des Destillates keine Reaktion mehr mit Quecksilberchlorid gab. Das Destillat wurde sodann

zuerst mit 500 ccm, dann mit 250 ccm Äther extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden während einer halben Stunde mit einer Benzoldiazoniumchloridlösung geschüttelt, die auf übliche Art aus 50 ccm $^n/_5$-Anilinlösung dargestellt war.

Die Isolierung des Azofarbstoffes geschah auf früher beschriebene Weise.

Aus 5 g Chlorophyllansäure wurden 0,12 g des Azofarbstoffs I und 0,04 g des Azofarbstoffs II erhalten. Nach dreimaligem Umkrystallisieren des ersten wurde der richtige Schmelzpunkt konstatiert, d. h. bei langsamem Erhitzen 233°, bei raschem 237 bis 241°. Produkt II erfordert mehrere Krystallisationen und schmilzt bei 268°.

Produkt I wurde in zur Analyse genügender Menge erhalten:

0,0947 g Subst. gaben $v = 15{,}4$ ccm, $t = 16{,}5°$, $b = 753$ mm
entsprechend: 18,56% N,

0,1024 g gaben 0,2451 g CO_2, 0,0667 g H_2O entsprechend
65,28% C und 7,28% H,

während bei der Analyse des aus Hämopyrrol erhaltenen Farbstoffes im Durchschnitt folgende Werte ermittelt wurden[1]):

65,73% C, 6,89% H, 18,39% N, 9,30% Cl.

Der Identitätsbeweis wurde schließlich noch auf spektrocolorimetrischem Wege ergänzt. Zu diesem Zwecke wurden 0,0842 g des Produktes I aus Hämin in Form des Chlorhydrates in Alkohol unter Zusatz einiger Tropfen methylalkoholischen Natriumhydrates gelöst und auf 200 ccm verdünnt. Versuche, die mit dieser Lösung angestellt wurden, belehrten, daß sie zwar zur Bestimmung des Absorptionskoeffizienten im gelben Lichte angewandt werden kann, für grünes und blaues Licht aber zu konzentriert war. Sie wurde daher verdünnt, und zwar auf 10 ccm kamen 90 ccm Alkohol zur Anwendung. Gemessen wurden 1 mm-Schichten.

Gefunden wurde:

Hg (gelb)	$\alpha_1 = 84{,}12°$,	$\alpha_2 = 70{,}98°$,	$E = 1{,}0284$
Hg (grün)	$\alpha_1 = 102{,}20°$,	$\alpha_2 = 55{,}01°$,	$E = 3{,}7652$
Hg (blau)	$\alpha_1 = 96{,}29°$,	$\alpha_2 = 66{,}03°$,	$E = 2{,}8591$

[1]) Diese Zeitschr. 10, 444, 1908.

Daraus ergeben sich folgende Absorptionskoeffizienten:

$$\text{Hg (gelb)} = \frac{0{,}037\,92_{(1000)}}{1{,}0284} = A_1 = 0{,}036\,87,$$

$$\text{Hg (grün)} = \frac{0{,}037\,92}{7{,}7652} = A_2 = 0{,}010\,07,$$

$$\text{Hg (blau)} = \frac{0{,}037\,92}{2{,}8591} = A_3 = 0{,}013\,26.$$

Zum Vergleich wurde nun eine alkoholische Lösung des freien Azofarbstoffes, der aus Chlorophyllpyrrol erhalten war, hergestellt, und zwar von annähernd derselben Stärke wie die oben zur Messung angewandte. Der Extinktionskoeffizient für gelbes Licht wurde bestimmt und unter der Annahme, daß der Absorptionskoeffizient gleich 0,037 ist, die Konzentration berechnet. Umgekehrt wurden alsdann an Hand der ermittelten Extinktionskoeffizienten für grünes und blaues Quecksilberlicht die Absorptionskoeffizienten berechnet, wobei sich ergab, daß dieselben mit den oben angeführten genügend übereinstimmen:

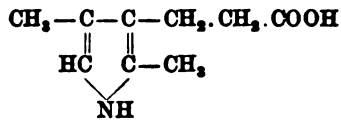
	Chlorophyllpyrrolazo-Farbstoff	Hämopyrrolazo-Farbstoff
Hg (gelb)	0,037	0,037
Hg (grün)	0,009	0,010
Hg (blau)	0,011	0,013

Durch diesen endgültigen Beweis der Idendität beider Pyrrole, und den früher von dem einen von uns gelieferten Beweis, daß Phylloporphyrin bei der Oxydation das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure[1]) liefert, wird es wahrscheinlich gemacht, daß das Chlorophyllmolekül dieselben zwei Atomkomplexe enthält, die nach den Untersuchungen von Nencki und Zaleski, von Küster und von Piloty, sowie denjenigen von Plancher über die Oxydation von Pyrrolhomologen, auch im Hämin vorhanden sind. Der eine wird durch die Bildung des Anhydrids der dreibasischen Hämatinsäure, der zweite des Dimethyl-äthylpyrrols gekennzeichnet.

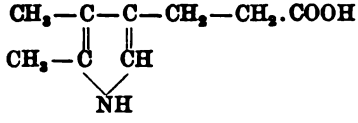
Ausgeschlossen ist es allerdings nicht, daß das Häminmolekül sich z. T. insofern vom Chlorophyllmolekül unterscheidet wie die beiden für die Hämopyrrolcarbonsäure möglichen Formeln:

---

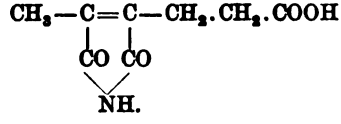
[1]) Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1902, 1.



und



da beide derartig gebaute Komplexe als Oxydationsresultat dieselbe Hämatinsäure liefern können:



Erwähnt sei schließlich, daß Hämopyrrol nicht das einzige Reduktionsprodukt des Chlorophylls unter den oben angeführten Bedingungen ist. Neben den beiden Farbstoffen von den Schmelzpunkten 233° und 268° wurde noch ein dritter in kleinen Mengen beobachtet, der sich ganz anders verhielt als die bis jetzt beim Studium des Hämopyrrols (aus Hämin) beobachteten. Hoffentlich werden wir in der Lage sein, genügend Material beschaffen zu können, um diese Angelegenheit näher untersuchen zu können.

Anhang.

In der Abhandlung über Hämopyrrol, die der eine von uns gemeinschaftlich mit Leyko[1]) publiziert hat, wurde der Extinktionskoeffizient des Azofarbstoffes II von der Zusammensetzung $C_{28}H_{33}N_6Cl$ angegeben. Zur Berechnung desselben wurden die direkt abgelesenen Winkelwerte verwendet.[2]) Ergänzend geben wir den Extinktionskoeffizienten nach der Formel

$$E = \frac{\log tg \cdot \frac{\alpha_1}{2} - \log tg \cdot \frac{\alpha_2}{2}}{d}$$

berechnet an.

Konzentration 0,1 g in 1000 ccm Chloroform. Schichtendicke 1 mm. Na-Licht.

---

[1]) Diese Zeitschr. 22, 464, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 24, 320, Fußnote, 1910.

$$\alpha_1 = 64{,}74^0,$$
$$\alpha_2 = 78{,}95^0,$$
$$E = 1{,}1379.$$

Auf dieselbe Art berechnet erhält man für den analog zusammengesetzten Farbstoff aus α_1-β_2-Dimethylpyrrol[1]) folgenden Wert:

Konzentration 0,1 g in 1000 ccm Chloroform. Schichtendicke 1 mm. Na-Licht.

$$\alpha_1 = 78{,}70^0,$$
$$\alpha_2 = 62{,}68^0,$$
$$E = 1{,}2920.$$

[1]) Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1910, 1.

Beobachtungen an Jodproteinen.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

In welche Gruppen bei der künstlichen Jodierung von Eiweißkörpern das Halogen eintritt, ist trotz vieler darauf gerichteter Untersuchungen nicht aufgeklärt. Nur für die Beteiligung des Tyrosinkomplexes haben sich sichere Anhaltspunkte[1]) ergeben. Diese haben an Bedeutung gewonnen, seitdem M. Henze[2]) der wichtige Nachweis gelang, daß im natürlichen Gorgonin das Jod in Form von 3,5-Dijodtyrosin vorhanden ist. Man hat ferner an die zweite aromatische Aminosäure, das Phenylalanin (A. Oswald)[3]) gedacht, und auch der heterocyclische Komplex ist in Betracht zu ziehen,[4]) nachdem dessen Jodbindungsvermögen[4]) erkannt war.

Das 3,5-Dijodtyrosin, die alte Drechselsche Jodgorgosäure, ist bisher mit Sicherheit weder aus einem künstlich jodierten Eiweißkörper noch aus anderen Naturstoffen als aus dem Gorgonin erhalten worden, so daß weitere Untersuchungen in dieser Richtung erforderlich sind.

Die Isolierung eines einfachen jodhaltigen Körpers nach der Hydrolyse ist bisher nur beim Gorgonin möglich gewesen. Vollständige Aufspaltungen mit Alkalien und Säuren scheinen überhaupt wenig Aussicht zu bieten, da bei diesen Eingriffen — abgesehen von dem günstigen Falle eben beim Gorgonin —

---

[1]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 159, 1898. — Blum und Vaubel, Journ. f. prakt. Chem. 57, 365, 1898.

[2]) M. Henze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 64, 1907.

[3]) A. Oswald, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 514, 1903.

[4]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 2, 357, 1906 und 6, 276, 1907.

ein erheblicher Teil des Jods aus der organischen Bindung losgelöst wird.

Die im folgenden beschriebenen Versuche, die allerdings noch zu keinem Abschluß geführt haben, zeigen, daß bei Fermenthydrolysen die Aussichten bessere sind.

Zugrunde gelegt wurden Erfahrungen mit Spongin, die Herr cand. phil. L. Scott[1]) in seiner Dissertation beschrieben hat. Über diese, auf meine Veranlassung angestellten Versuche sei anhangsweise berichtet (s. Anhang II).

Bei den Versuchen mit künstlich jodierten Eiweißstoffen kam nur ein solcher in Betracht, der sein Jod tatsächlich in fester Bindung enthält. Die im Handel befindlichen Präparate weisen in der Haftfestigkeit des Halogens die größten Schwankungen auf und sind z. T. nur lockere Additionsprodukte. Geeignet erwies sich das Jodglidine, d. i. künstlich jodiertes Weizeneiweiß. Das mir von der Fabrik V. Klopfer-Dresden freundlichst zur Verfügung gestellte Präparat enthielt nur minimale Mengen durch Waschen mit Wasser entfernbaren anorganischen Halogens. Der durch Extraktion des Handelsproduktes mit Äther oder Petroläther gewonnene Auszug wies Spuren organisches Jod auf. Der Gehalt von Jodglidine an organisch gebundenem Jod belief sich auf 9,96 bis 10,30%; die Substanz gab keine deutliche Tryptophanreaktion und Millonsche Probe, während das zugrunde liegende nicht jodierte Glidin, das ich gleichfalls der Liebenswürdigkeit der Firma verdanke, bei beiden Reaktionen einen intensiven Ausfall zeigte.

Bei den Hydrolysen mit rauchender Salzsäure, 38%iger Schwefelsäure und gesättigtem Barytwasser wird so viel Jod in anorganische Bindung übergeführt, daß dieser Weg, wie erwähnt, verlassen werden mußte.

Die Trypsinverdauung des käuflichen Jodglidines verläuft nur langsam. Darum wurde das Material in folgender Weise vorbereitet: 100 g staubfein gepulvertes Jodglidine wurden mit 300 ccm Schwefelsäure von 30% 8 Stunden auf der Maschine geschüttelt und das Schüttelgefäß durch öfteres Eintauchen in Wasser von 40° angewärmt. Dann wurde das Gemisch unter

[1]) Dissertation, Berlin 1908.

wiederholtem Umschütteln 6 Tage im Brutschranke bei 37 bis 38° belassen. Ohne Rücksicht auf noch vorhandene feste Partikeln wurde dann in der Kälte die Schwefelsäure genau mit Baryt ausgefällt, das Filtrat und die Waschwässer im Vakuum auf 600 ccm eingeengt. Eine geringfügige Jodabspaltung ist dabei unvermeidlich, die wasserklare Flüssigkeit enthielt (nach Probeanalysen) im ganzen noch 6,82 g organisches und 0,76 g anorganisches Jod.

Die Lösung wurde sodann mit verdünntem Ammoniak gegen Lackmus gerade schwach alkalisiert, mit Chloroform versetzt und mit 3 g Pankreatin (Rhenania) 2 Monate lang im Brutschranke unter vielfachem Umschütteln verdaut, bis die Biuretreaktion nur noch schwach war. Nach wenigen Tagen der Trypsineinwirkung färbte sich die Flüssigkeit hellgelb, und gleichzeitig nahm sie schwach saure Reaktion an; trotz mehrfach erneuten Ammoniakzusatzes wiederholte sich diese Erscheinung, so daß es sich unzweifelhaft um die Entstehung eines sauren Produktes handelt. Auch HJ wurde abgespalten, da am Ende der Verdauung bedeutend mehr anorganisches Jod zugegen war. Auf die Gesamtflüssigkeit berechnet betrug der Gehalt an ionisiertem Jod 3,77 g. Freies Jod trat nicht auf, das zugesetzte Chloroform wurde nie violett.

Es verdient hervorgehoben zu werden, daß die Verdauungslösung im Vergleich zum Ausgangsmaterial eine deutliche Millonsche Reaktion gab, während die Glyoxylsäureprobe negativ blieb.

Die Verarbeitung auf organische Jodverbindungen geschah in der für Spongin beschriebenen Weise. Bei der langen Dauer der Trypsineinwirkung und der mühevollen Isolierung haben die bisherigen Ergebnisse nur einen orientierenden Charakter.

In der durch Phosphorwolframsäure abgetrennten Fraktion war nur wenig Jod vorhanden, ebenso in dem freiwillig auskrystallisierenden Anteile, der hauptsächlich aus Leucin bestand. Aus dessen Mutterlaugen wurde durch Fraktionierung (s. Anhang I) ein undeutlich krystallisierendes Kupfersalz isoliert, das 52,25% J, 7,34% Cu und 3,92% N enthielt.

Die Zusammensetzung erinnert an die von jodgorgosaurem Kupfer, das J = 54,74%, Cu = 6,85% und N = 3,23% verlangt. Die Isolierung von Jodgorgosäure nach den von

Wheeler und Jamieson[1]) sowie von M. Henze[2]) angegebenen Methoden gelang jedoch nicht.

Statt der Vorbehandlung des tryptisch langsam verdaulichen Jodglidines mit Schwefelsäure, bei der Verluste unausbleiblich sind, dürfte eine voraufgehende Digestion mit Pepsinsalzsäure vielleicht angebracht sein. Denn bei der Pepsineinwirkung werden nur kleine Mengen anorganisches Jod abgespalten und stark jodhaltige Albumosen gebildet.

Gleichzeitig wurde versucht, durch das Studium des physiologischen Verhaltens etwas über den Ort des Jodeintrittes zu erfahren.

Es liegen bereits zahlreiche Untersuchungen über das Schicksal von Jodproteinen im Organismus vor. Speziell für Jodglidine hat H. Boruttau[3]) gezeigt, daß es meistens innerhalb 48 Stunden aus dem Organismus ausgeschieden wird, nachdem es zuvor zum allergrößten Teile in ionisierte Form, in Jodalkali, übergegangen ist. Dieses Resultat, das ich durchaus bestätigen kann, ist um so merkwürdiger, als sich ja gezeigt hat, daß trotz intensiver und langdauernder Pepsin- sowie Trypsinverdauung nahezu die Hälfte des Halogens organisch gebunden bleibt. Es muß daher im Körper das Jod aus der organischen Bindung gelöst werden.

Versuche, durch Digestion von Jodglidine mit Leberbrei Jodabspaltung zu erreichen, haben nicht zum Ziel geführt, dagegen läßt sich deutlich der Anfang eines solchen Prozesses erkennen, in dem Jod aus der koagulablen und durch Phosphorwolframsäure fällbaren Form in eine durch dieses Reagens nicht mehr fällbare und lösliche übergeführt wird.

5,0 g staubfein gepulvertes Jodglidine wurden mit 200 g zerkleinerter Hundeleber nebst Toluol und Chloroform 8 Tage der antiseptischen Autolyse bei 37 bis 38° überlassen. Nach dem Auskoagulieren war anorganisches Jod nur minimal vorhanden, dagegen deutlich solches in organischer Bindung. Die Gesamtmenge dieses nach dem Veraschen nachweisbaren Jodes belief sich auf 0,102 g, d. h. bei einem Jodgehalt des Jodglidines von rund 10% auf $^1/_5$ der vorhandenen Menge. Durch Phosphorwolframsäure in schwach schwefelsaurer Lösung wurde nicht alles Jod entfernt, so daß der Abbau zum Teil über die Stufe von Jodalbumosen bzw. Jodpeptonen hinausgegangen war.

[1]) Americ. Journ. of Chem. **33**, 365, 1905.
[2]) l. c.
[3]) Deutsche med. Wochenschr. 33, 1490, 1907.

Des weiteren wurde auf die Entstehung jodhaltiger Abbauprodukte, speziell im Harn und Blut, nach Verabfolgung von Jodglidine gefahndet.

Nach erfolglosen Versuchen an Kaninchen, die an mehreren Tagen je 2 bis 3 g Jodglidine in wässeriger Suspension mit der Schlundsonde erhalten hatten, wurde ein längerer Versuch am Hunde vorgenommen.

Für den gedachten Zweck schien es wichtig, den Organismus des Tieres nicht mit übergroßen Gaben des Präparates zu überschwemmen, sondern dieses dauernd in aufnehmbaren Mengen zuzuführen.

Der Hund erhielt vom 4. März bis zum 26. Juni, 114 Tage lang, pro die 3 g Jodglidine. Sein Befinden war in dieser langen Versuchsperiode ununterbrochen das beste. Das massenhafte Auftreten von Jod im Harn zeigte die gute Resorption an. Zu keiner Zeit ist es möglich gewesen, aus dem Urin in Äther oder Essigester lösliche organische Jodverbindungen zu isolieren. Auch bei Verarbeitung des gesamten Blutes des am 115. Versuchstage getöteten Tieres war nichts an äther- bzw. essigesterlöslichen jodhaltigen Substanzen zu isolieren.

Das Jodglidine verhält sich in dieser Richtung anders als das Jodeigon[1]) und die Jodgorgosäure[2]), die beide zur Entstehung ätherlöslicher organischer Jodverbindungen im Tierkörper Anlaß geben.

Ich pflichte Oswald (l. c.) durchaus bei, daß die Entstehung von o-Jodbenzoesäure aus einem 3,5-Dijodtyrosinkomplex der Erklärung Schwierigkeiten bietet. Nicht beistimmen kann ich jedoch seiner Behauptung, daß im Eiweiß das Jod vorwiegend an Tyrosin gebunden ist. Oswald[3]) selbst hat früher gerade als einer der ersten gezeigt, daß noch andere Gruppen bei der Jodierung beteiligt sind. Die Frage, an welchen Orten das Halogen bei der Jodierung von Proteinen eintritt, ist eben noch unbeantwortet.

Auch ein Übergang von unverändertem Jodglidine in den Harn ist nie zu beobachten gewesen, während F. Hofmeister[4]) Jodovalbumin gelegentlich in den Urin übertreten sah. In den

[1]) M. Mosse und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 427, 1903.

[2]) A. Oswald, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 399, 1909; 65, 141, 1910.

[3]) A. Oswald, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 514, 1903.

[4]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 159, 1897.

Organen — die Schilddrüse ist bei ihrem schwankenden physiologischen Jodgehalt nicht untersucht — sowie in den Blutproteinen ist kein organisch gebundenes Jod gefunden.[1]) Es kommt also trotz der protrahierten Jodglidinezufuhr zu keiner Deponierung dieses Jodalbumins.

Das steht mit den klinischen Erfahrungen mit diesem Präparate im Einklange, wo sich auch keinerlei Anhaltspunkte für eine Jodaufspeicherung ergeben haben.

Die Überführung des Jods aus der entionisierten in die anorganische Form erfolgt bei dem resorbierten Anteile des Jodglidines offenbar sehr schnell und vollständig, ganz ähnlich, wie es v. Fürth und Friedmann[2]) für das Jodalbazid festgestellt haben.

Anhang I.

Über Spongin.

Bearbeitet von L. Scott (Belleville, U. S. A).

Welche Gruppe der Schwammsubstanz man als Trägerin des organisch gebundenen Jods betrachten muß, hat bisher nicht festgestellt werden können. Bei der Hydrolyse des Spongins mit Mineralsäuren entweichen erhebliche Mengen Jod und Jodwasserstoffsäure. Auch bei der Aufspaltung mittels Barytwassers wird Jod aus der organischen Verbindung gelöst.

Man durfte nun hoffen, daß bei schonender Hydrolyse, etwa bei Aufspaltung durch Enzyme, die Isolierung der jodhaltigen Gruppe möglich sei. Tatsächlich gelingt es, die an sich unverdauliche Schwammsubstanz durch Behandlung mit starker Schwefelsäure löslich zu machen und in ein Produkt zu verwandeln, das nunmehr mit Pankreasferment bis zum Verschwinden der Biuretprobe verdaut wird.

Geschieht die Behandlung mittels Schwefelsäure unter der nötigen Vorsicht, so wird nur wenig organisch gebundenes Jod

---

[1]) Abgesehen von Spuren, die keine Bedeutung haben; s. Albu-Neuberg, Physiologie und Pathologie des Mineralstoffwechsels, Berlin 1906, S. 181.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Schmiedeberg-Festschrift, 1908, 214.

abgespalten. Nach Entfernung der Diaminosäuren durch Phosphorwolframsäure, der Hauptmenge des Leucins durch Krystallisation usw. kann eine stark jodhaltige Verbindung durch fraktionierte Krystallisation der Kupfersalze von begleitenden Aminosäuren größtenteils befreit und schließlich in einer alkohollöslichen Fraktion angereichert werden.

Trotz der Verarbeitung von mehreren Kilogramm Schwamm und vieler darauf verwandten Mühe ist es nur gelungen, eine äußerst geringe Ausbeute an jodreicher Substanz zu erhalten. Es stand die schließlich gewonnene Menge dieser Jodverbindung in keinem Verhältnis zum Ausgangsmaterial. Zweifellos sind durch die Fraktionierungen erhebliche Mengen verloren gegangen. Man konnte nämlich konstatieren, daß Jod in den verschiedenen Mutterlaugen entweder nach der Krystallisation oder nach der Fällung der alkoholischen Lösung mit Äther nach dem Einmengen nachweisbar war. Jedoch war die Jodreaktion immer so schwach, daß man annehmen konnte, daß die vorhandene Menge der Verbindung nicht der Mühe lohnen werde, eine zweite systematische Ausfällung oder Krystallisation auszuführen.

Man kann nach den Versuchen nicht entscheiden, ob die erhaltene jodreiche Substanz rein war oder nicht. Dem Verhalten zu Lösungs- und Fällungsmitteln nach zu schließen, war sie von gröberen Verunreinigungen frei, und es deuten die Resultate der Analyse auf eine stark jodierte Monoaminosäure hin. Die folgende Versuchsanordnung gibt eine Übersicht über die erhaltenen Resultate.

2 Portionen Schwamm von 600 bzw. 1200 g wurden mit 600 bzw. 1200 ccm 50%iger Schwefelsäure durch 1- bis 2-wöchentliches Stehen im Brutschranke in Lösung gebracht, und die Säure dann vorsichtig mittels Baryt entfernt. Das Filtrat vom Bariumsulfat wurde eingeengt und dann in einer Flasche mit Pankreatin im Brutschranke bei 37 bis 38° der Verdauung bis zum fast völligen Verschwinden der Biuretreaktion überlassen, was mindestens drei Wochen in Anspruch nahm. Als Antisepticum wurde hinreichend Toluol hinzugefügt. Die nach der Verdauung filtrierte Flüssigkeit wurde mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, und die überschüssige Säure mittels Baryt und dieser wieder mit Schwefelsäure entfernt. Das Filtrat von Barium-

sulfat setzte reichliche Kristalle ab, die hauptsächlich aus Leucin und vielleicht Spuren Tyrosin bestanden. Das Leucin wurde nach dem Umkrystallisieren durch eine Kjeldahlbestimmung identifiziert.

$C_6H_{13}NO_2$: Ber. für: N 10,69; gef.: N 10,53.

Eine Probe noch unreiner Krystalle, die daneben erhalten waren, zeigte ganz schwach die Millonsche Reaktion.

Die nach der Entfernung der Hauptmenge des Leucins (und Tyrosins?) erhaltene Mutterlauge wurde mit Kupfercarbonat gekocht, filtriert, eingeengt und der fraktionierten Krystallisation unterworfen.

Bei der 1. Portion von 600 g erhielt man nach mehrfachem Fraktionieren eine nicht krystallisierbare Substanz, die in 93%igem Alkohol löslich und stark jodhaltig war.

Die 2. Portion ergab keinen Jodkörper.

Eine dritte Menge Schwamm von ca. 1 kg wurde wie oben behandelt. Größere Mengen der jodhaltigen Verbindung konnten aber aus keiner einzigen Fraktion erhalten werden, und man fand schließlich Spuren in allen.

Eine 4. Portion von einem Kilogramm Schwamm wurde nach der Verdauung und dem Eindampfen mehrmals tagelang mit 93%igem Alkohol in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben erschöpft. Die Auszüge wurden eingeengt und stehen gelassen. Nach 4 Monaten schieden sich blätterige Kristalle aus, die eine starke Jodreaktion gaben. Sie wurden von der sirupösen Mutterlauge durch Absaugen auf einer Nutsche getrennt, in Wasser gelöst und mit Phosphorwolframsäure, Baryt und Kohlensäure behandelt, wie vorher angegeben ist.

Es sei hier bemerkt, daß der Niederschlag mit Phosphorwolframsäure sich niemals als erheblich jodhaltig erwies. Die von Diaminosäuren in üblicher Weise befreite Flüssigkeit wurde konzentriert, mit Kupfercarbonat behandelt und filtriert. Die entstandene Kupfersalzlösung war hier tiefblau, während in manchen von den anderen Fraktionen bei der Bearbeitung der 1. und 2. Portion die Farbe tiefgrün gewesen war. Diese grünen Fraktionen zeigten sich niemals jodhaltig. Nach wiederholter fraktionierter Krystallisation der Kupfersalzlösung konnte man zu einem Produkt gelangen, das in absolutem Alkohol

vollkommen löslich war und durch Eingießen in Äther gefällt wurde. Die Menge dieses getrockneten Kupfersalzes betrug 0,156 g.

Die folgenden Bestimmungen wurden mit dieser Menge vorgenommen.

0,0592 g Substanz: 0,0323 g AgJ = 29,48% J,

0,0485 g „ 0,0249 g „ = 27,12% J,

I. 0,0190 g Substanz: 1,73 ccm N (755 mm; 22°) = 10,38% N,

II. 0,279 g Substanz: 2,31 ccm N (761 mm; 21,5°) = 9,47% N.

Analysen I und II wurden mit Mangancarbonat ausgeführt und der Inhalt des Verbrennungsschiffchens auf Kupfer analysiert.

I lieferte 0,0068 g Cu_2S, entsprechend 28,58 Cu,

II „ 0,0078 g „ „ „ 22,32 „

Eine Bestimmung des Kupfers in einer andern, ebenso dargestellten Probe ergab 21,73% Cu.

Die Gegenwart von Spuren organisch gebundenen Broms wurde nach dem Verfahren von E. Salkowski[1]) für die Schwammsubstanz nachgewiesen. Es ist dieses deshalb von Interesse, da C. Th. von Mörner[2]) inzwischen bei zahlreichen Seegewächsen einen Bromgehalt festgestellt hat.

Anhang II.

Über eine Fehlerquelle bei der Jodbestimmung in organischen Verbindungen.

Ein gutes Verfahren der Abtrennung und quantitativen Bestimmung von anorganischem Jod ist die Destillation mit $FeCl_3$, Auffangen des mit den Wasserdämpfen übergehenden Jods in Jodkalilösung und Titration mit Thiosulfat.

In einer Reihe von Untersuchungen haben verschiedene Autoren dieses Verfahren auch für die Bestimmung des Jods in organischen Verbindungen angewandt, nachdem zuvor mit Soda und Salpeter verascht worden ist. Die Schmelze ist dabei in verdünnter Salzsäure gelöst und wie zuvor mit Ferrisalz destilliert worden.

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. 38, 157, 1903.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 51, 33, 1907.

Ein Fehler kommt dadurch zustande, daß bei Behandlung von Nitraten oder Nitriten mit Salzsäure Stickoxyde und deren Chloride sowie freies Halogen (Königswasser!) entweichen und in der Vorlage aus dem zur Aufnahme des Jods bestimmten Kaliumjodid Jod in Freiheit setzen.

Die Fehlerquelle ist so grob, daß von der Wiedergabe der Beleganalysen abgesehen werden kann.

Daraus ergibt sich, daß für dieses Verfahren der Jodbestimmung nicht mit Salpeter, sondern nur mit Ätzkali verascht werden muß und daß Nitrate oder Nitrite nicht zugegen sein dürfen.

Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten.

III. Mitteilung.

Übergang von Benzoesäure in Salicylsäure im Sonnenlicht.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Die Substanzen des tierischen und pflanzlichen Organismus sind im ganzen an sich nicht lichtempfindlich. Vor einiger Zeit habe ich gezeigt,[1]) daß sie photosensibel werden, wenn sie mit kleinen Mengen eines Metallsalzes versetzt worden sind. Außer den in meinen früheren Versuchen benutzten Uranverbindungen können, wie ich schon damals erwähnt habe, auch andere Metallsalze zu den katalytischen Lichtreaktionen Verwendung finden. Über die hierbei erzielten Ergebnisse soll im Zusammenhange berichtet werden; im folgenden sei nur ein interessanter Einzelfall mitgeteilt: die Umwandlung von Benzoesäure in Salicylsäure durch Sonnenstrahlen.

Versetzt man eine Lösung von 18 g reiner Benzoesäure (chlorfreies Produkt) in 4 bis 5 Litern Wasser mit einer konzentrierten Lösung von 60 g wasserfreiem Ferrisulfat, so entsteht eine Trübung, die sich zu einem Niederschlage von Ferribenzoat verdichtet, während die Hauptmenge der Benzoesäure in Form einer hellbraunen klaren Flüssigkeit in Lösung bleibt. Setzt man diese in einer mit Korkstopfen verschlossenen Flasche aus gewöhnlichem weißem Glase dem direkten Sonnenlichte aus, so ändert sie mehr oder minder schnell die Farbe und wird violett.

---

[1]) C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. I. Mitteilung. Diese Zeitschr. 13, 305, 1908.

Diese Umwandlung ist in unseren Breiten nach 2 Tagen meist deutlich; auf colorimetrischem Wege läßt sich das Fortschreiten der Reaktion leicht verfolgen. In Berlin waren im Juni in 16 Tagen z. B. 13% der Benzoesäure in Salicylsäure übergegangen; in 2200 m Höhe auf Teneriffa war hierzu nur ungefähr die doppelte Anzahl von Stunden erforderlich.

Die Wirkung des Lichtes äußert sich auch, wenn nur minimale Eisenmengen zugegen sind; der erwähnte Überschuß dient lediglich zur vollständigen Überführung der entstandenen Salicylsäure in ihre violette Eisenverbindung.

Auch mit Ferrosalz ($FeSO_4$) tritt die Umwandlung ein, jedoch langsamer und in deutlicher Abhängigkeit von atmosphärischem Sauerstoff; mit künstlichen Lichtquellen habe ich sie ebenfalls erzielt, im Dunkeln findet keine Salicylsäurebildung statt.

Bezüglich der analytischen Daten sei auf die zusammenfassende Mitteilung verwiesen.

Da auch unter unseren klimatischen Verhältnissen die Reaktion nach 2 Tagen meistenteils deutlich ist, so zeigt sie in sehr instruktiver Weise die leichte Angreifbarkeit des Benzolringes unter Bedingungen, die unzweifelhaft in der Natur vorkommen. Als praktische Konsequenz ergibt sich, daß in Vegetabilien und anderen Materialien angetroffene Salicylsäure keineswegs stets künstlich zugesetzt zu sein braucht.

Eine neue Methode zur Bestimmung des Zuckers im Harn.

Von

K. A. Hasselbalch und **J. Lindhard.**

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 18. Juli 1910.)

Wer im Laboratorium Traubenzucker in einer reinen Lösung zu bestimmen wünscht, wird keine Schwierigkeit haben, eine Methode zu finden, die imstande ist, ihm den gesuchten Wert mit großer Genauigkeit zu geben. Selbst wenn von einer so komplizierten Lösung wie dem Harn die Rede ist, wird man ein annähernd richtiges Resultat erzielen können.

Dem Arzte, dem die vom Laboratorium dargebotenen Hilfsmittel nicht zur Verfügung stehen, wird es gewöhnlich eine unüberwindliche Schwierigkeit bereiten, den Zuckergehalt des Harns einigermaßen zu bestimmen; dies wird zum Glück aber auch nur ausnahmsweise erforderlich sein. Ein solcher Ausnahmefall, wo der Arzt gezwungen sein wird, sofort seinen Standpunkt zur Frage: Glucosurie oder nicht? zu nehmen, und wo eine gewisse Sicherheit und Genauigkeit der Untersuchung deshalb verlangt wird, sind z. B. die Untersuchungen zu Versicherungszwecken. Eben in der Versicherungsmedizin wird eine Methode von Interesse sein, die ohne Vorarbeiten zu erfordern und ohne Anwendung eines gar zu komplizierten Apparates leicht und schnell ein für den Zweck hinlänglich genaues Resultat liefert.

Jetzt behilft man sich bei derartigen Untersuchungen gewöhnlich mit sogenannten qualitativen Proben; diese sind aber aus zwei Gründen ungenügend. Rein technisch, weil die qualitativen Proben, wenn sie zuverlässig sein sollen, ebenso umständlich wie die quantitativen sind; prinzipiell, weil der Ausfall einer qualitativen Probe in der Tat durchaus

nichts besagt. Der Harn enthält nämlich, wie alle neueren systematischen Untersuchungen darlegen, in der Regel Zucker, nicht nur in Spuren, sondern in meßbaren Mengen, und der Ausfall einer qualitativen Probe wird deshalb, recht besehen, nur eine Probe der angewandten Reagentien sein. Nur da, wo die Empfindlichkeit der letzteren dergestalt abgemessen wird, daß sie eine gewisse, allgemein angenommene Menge erfordern, um einen positiven Ausschlag zu geben, d. h. nur da, wo man die Reaktion zu einer quantitativen macht, hat das Resultat Bedeutung.

Der Harn gesunder Menschen enthält, wie erwähnt, gärungsfähigen Zucker als normalen Bestandteil. Lavesson[1]) fand im Harn von 60 Individuen, 30 Männern, 20 Frauen und 10 Kindern, folgende Werte:

Bei Männern durchschnittlich 0,041% Zucker (von 0,023—0,083 var.)
„ Frauen „ 0,031 „ „ („ 0,010—0,050 „)
„ Kindern „ 0,040 „ „ („ 0,010—0,065 „)

Unsere eigenen Untersuchungen führten zu ganz ähnlichen Ergebnissen, worüber näheres unten.

Wie verhalten sich die gewöhnlich angewandten qualitativen Proben nun zu solchen normalen Harnen?

In diesem Zusammenhang wird es genügen, zwei dieser Proben zu besprechen, nämlich die Almen-Nylandersche Wismutprobe und diejenige der zahlreichen Varianten der Trommerschen Kupferreduktionsprobe, die von fast allen Untersuchern für die zuverlässigste gehalten wird, in der von Worm-Müller ausgearbeiteten Modifikation.

Hammarsten[2]) hat in einer eingehenden Abhandlung diese beiden Proben behandelt und kam zu dem Resultate, daß die Wismutprobe, wenn sie vorschriftsmäßig ausgeführt wird, d. h. wenn man das Reagens im Verhältnisse 1:10 zusetzt, und das Kochen 2 bis 5 Minuten über freier Flamme geschieht, wie auch, wenn man den Erfolg nach 5 Minuten langem Stehen bewertet, fast immer ein unzweideutiges Ergebnis und positiven Ausschlag bei 0,1 bzw. 0,05% Zucker gibt. Man findet indes einige Fälle, besonders unter den sogenannten „hochgestellten" Harnen, wo die Probe selbst bei minimalen Zuckermengen, ja sogar nach Vergärung positiven Ausschlag zeigt. Dagegen versagte die Probe niemals bei einem Zuckergehalt von 0,1% oder darüber in frischem Harn; nur in einem einzigen Falle geschah dies mit vergorenem Harn, wo die Probe nach Zusatz von 0,1% Zucker negativen Ausfall ergab.

Worm-Müllers Probe gibt nach Hammarsten ziemlich oft, namentlich wenn sie nicht streng vorschriftsmäßig mit abwechselnden Mengen Kupfersulfat ausgeführt wird, den Anlaß zu Fehlschlüssen nach beiden Richtungen, und, was vielleicht am meisten belästigt, sie liefert häufig ein zweideutiges Ergebnis. Verlangt man einen ziegelroten Bodensatz, so wird nach Hammarsten die Probe zu grob.

Dieselben Schlüsse zieht Lavesson aus seinem obengenannten Material.

---

[1]) Diese Zeitschr. 4, 40, 1907.

[2]) Upsala Läkareförenings Förhandlinger 12, 149.

Rona und Michaelis[1]) haben vor kurzem nachgewiesen, daß die Adsorption von Zucker an Tierkohle durch Zusatz gewisser Stoffe verhindert werden kann.

Dieses Resultat benutzte Bohmansson[2]) in einer Untersuchung über die hier fraglichen Proben. Er behandelte den Harn mit Tierkohle und 5%iger Salzsäure und erhielt darauf keine „falschen" Reaktionen; unter den fünf Harnen, die nach Entfärbung auf Almens Probe reagierten, betrug die Zuckermenge in zwei Fällen jedoch 0,072 bzw. 0,069%, mithin weniger als die von Lavesson gefundene physiologische Grenze. Mit Worm-Müllers Probe erhielt Bohmansson sowohl vor als nach Entfärbung falsche Ausschläge in beiden Richtungen.

Selbst unternahmen wir Almen-Nylanders Probe an 136 Harnen von 45 Individuen nach Hammarstens Vorschrift, indem wir doch in sämtlichen Fällen 5 Minuten lang kochten. Zu bemerken ist, daß auch wir sehr wohl über freier Flamme zu kochen vermochten, ohne daß die Flüssigkeit aus dem Glase herausgestoßen wurde. Das Resultat war, daß wir in den 136 nicht entfärbten Harnen mit $< 0{,}1\%$ Zucker — die Zuckermenge durch Bang-Titrierung als Differenz vor und nach der Gärung bestimmt — in 30 Fällen (22%) positive Almen-Reaktion bei einem durchschnittlichen Zuckergehalt von 0,038% fanden. Bei Zuckermengen $< 0{,}05\%$ gab die Probe in 19 Fällen (14%) positiven Ausschlag. Die Probe versagte dagegen nie, wo der Zuckergehalt 0,1% überstieg.

Auch uns erwies sich Almens Probe als „gar zu fein", d. h. in vorschriftsmäßiger Weise ausgeführt, auf physiologische Zuckermengen zu reagieren, wenn man sie bei nicht entfärbtem Harn anwendet.

Worm-Müllers Probe, die wir in den vorbereitenden Untersuchungen zuweilen angewandt hatten, gaben wir gänzlich auf, vor allen Dingen weil sie gar zu oft zweideutige Resultate ergab. Wir müssen indes hinzufügen, daß diese Proben mit einer konstanten Menge Kupfersulfat ausgeführt wurden.

Anderseits werden die Kupferproben von deutschen Untersuchern dem praktizierenden Arzte als die zuverlässigsten und bequemsten empfohlen. Sahli gibt ihnen in seinem Handbuche den Vorzug vor der Wismutprobe, ohne hierfür jedoch bestimmte Gründe anzuführen. Pflüger[3]) betrachtet Almen-Nylanders Probe als unanwendbar, weil sie gar zu empfindlich sei, und empfiehlt eine modifizierte Worm-

[1]) Diese Zeitschr. 16, 489.

[2]) Diese Zeitschr. 19, 281.

[3]) Pflügers Arch. 105, 121 und 116, 265 und 533.

Müllersche Probe, die in seinen Händen gute Dienste geleistet haben soll. Macht man sich mit Pflügers Abhandlungen über diesen Stoff aber näher bekannt, so fühlt man sich nur sehr wenig von der Zuverlässigkeit seiner Reaktion überzeugt. Obschon Pflüger an allen Punkten von Hammarsten[1]) widerlegt worden ist, wird es doch lehrreich sein, sein Material ein wenig näher zu betrachten, da dasselbe besser als sonst irgend etwas darlegt, wie schwer Worm-Müllers Probe zu deuten sein kann. Man findet in Pflügers Versuchsprotokoll[2]) folgende Resultate:

Negativ.

Negativ, starke bräunliche Verfärbung. Pol. $\div 0^0,17$.[3])

Negativ. Negativ, grünliche Verfärbung.

Negativ, grünliche Verfärbung. Mit Fehling positiv ohne Cu_2O. Negativ. Negativ. Negativ, grünliche Verfärbung. Negativ. Negativ, nachträglich grünliche Verfärbung.

Oder in derselben Tabelle, in derselben Kolonne:[4])

Negativ. Negativ, grünlich verfärbt. Negativ, nachträglich bräunlich verfärbt. Negativ, stark bräunlich entfärbt. Pol. $\div 0^0,06$.[5])

Negativ, keine Entfärbung. Pol. $0^0,0$.[6])

Schwache Verfärbung.

Dies dürfte genügen. Unter diesen 16 Bestimmungen haben nur sechs einer abschwächenden Hinzufügung entgehen können, und das Vertrauen auf diese sechs negativen Bestimmungen wird ferner noch dadurch erschüttert, daß man hierunter Ausdrücke wie „ganz negativ" oder „exquisit negativ" antrifft. Hammarsten erzielte denn auch mittels derselben Methode ein negatives Resultat, sogar bei verhältnismäßig ansehnlichen Zuckermengen. Unter den übrigen zehn Fällen bleibt ein Fall, der letzte, als unbestimmt dahingestellt. In vier Fällen geben andere Kupferreduktionsproben unzweifelhafte positive Resultate; über diese sucht Pflüger dadurch hinwegzukommen, daß er die polarimetrischen Bestimmungen derselben Harne hervorhebt. Diese Kontrolle ist jedoch nichts weniger als sicher, da ein inaktiver Harn sehr wohl Zucker in nicht gar zu geringer Menge enthalten kann. Im vorletzten Falle hat die Probe augenscheinlich durchaus versagt, gerade in diesem Falle findet sich mit Worm-Müller „keine Entfärbung", während zwei andere Kupferproben positive Reaktion ergeben und die Polarisation unentscheidend ist.

Aus dem Vorliegenden geht deutlich hervor, daß keine der beiden hier genannten Proben sich als Normalmethode eignet,

[1]) l. c. und Pflügers Archiv 116, 517.

[2]) Pflügers Arch. 105, 159 in der Kolonne des 3. Tages nach der Operation.

[3]) Trommersche Probe anf. entfärbt, nachträglich starke positive Reaktion mit Ausscheidung von Cu_2O.

[4]) l. c. 165.

[5]) Trommer positiv.

[6]) Trommer in beiden Modifikationen positiv, schwache Verfärbung.

wenn es darauf ankommt, sich durch eine einzelne Untersuchung ein zuverlässiges Gutachten über die Menge des Zuckers in einer gegebenen Harnportion zu verschaffen. Die Wismutprobe ist unzweifelhaft bei weitem die bessere; sie scheint einen positiven Ausschlag zu geben, sogar bei viel geringeren Zuckermengen, als ihre Urheber zugeben, ein Verhalten, das sich sicherlich zum Teil dadurch ändern läßt, daß man die Dauer des Kochens reguliert; es erübrigt aber in sämtlichen Fällen die eigentlichen „falschen Reaktionen"; man vermeidet diese nur, wenn man den Harn entfärbt.

Unter den eigentlichen quantitativen Proben werden einige sich sogleich als außerhalb des Laboratoriums unanwendbar ausmerzen lassen. So gilt dies von der Kjeldahlschen und den anderen gravimetrischen Methoden, ebenso von den polarimetrischen Bestimmungen. Vergärung als Alleinprobe ist ziemlich grob und eignet sich nur für größere Zuckermengen. Auch Fehlings Titrierung wird wegen ihrer schwierigen Schlußreaktion weniger anwendbar sein. Letzteren Übelstand hat man auf verschiedene Weise zu eliminieren versucht, was u. a. mittels der von Kumagawa-Suto modifizierten Pavyschen Methode gelungen ist; dafür verlangt diese aber die Entfärbung des Harnes. Die schnellste und bequemste Titrierungsmethode ist die von Bang[1]) angegebene. Mittels dieser Methode erzielt man mit einem verhältnismäßig geringen Apparat und ohne größere Übung in der Laboratoriumsarbeit als die, die jeder Arzt besitzt, in kurzer Zeit ein unzweideutiges Resultat. Die Methode gibt aber die Totalreduktion, d. h. Zucker + Eigenreduktion des Harns an, und diese Eigenreduktion ist in normalen Harnen in der Regel um viele Male größer als die Zuckermenge. Lavesson[2]) fand bei gesunden Männern eine durchschnittliche Eigenreduktion von 0,238 (von 0,161 bis 0,437 var.), bei Frauen von 0,211 (von 0,110 bis 0,400 var.) und bei Kindern von 0,194 (von 0,115 bis 0,298 var.), alles in Prozent Dextrose ausgedrückt. Die Eigenreduktion ist nach Lavesson der Harnsäure und dem Kreatinin wie auch einem Reste von unbestimmbaren Stoffen, u. a. Farbstoffen zu verdanken; diese Restreduktion beträgt nicht weniger als 37,4 bis 67,4 % der Totalreduktion. Eben diese große Restreduktion ist für die Methode schwer ins Gewicht fallend, wenn es sich um Untersuchungen zu besonderen Zwecken handelt; gegen dieselbe richteten sich deshalb alle Versuche einer Verbesserung der Methode.

A. C. Andersen[3]), der die Bangtitrierung durchgearbeitet hat, findet ebenfalls eine Eigenreduktion von bis 0,41 %, zugleich findet er aber, daß diese sich durch verschiedene Entfärbungsverfahren sehr be-

[1]) Diese Zeitschr. 2, 271 und 11, 538.

[2]) l. c.

[3]) Diese Zeitschr. 15, 76.

deutend herabsetzen läßt; am besten in dieser Beziehung ist das Merkurinitrat, doch wird durch diesen Zusatz die Methode so sehr kompliziert, daß sie, in dieser Weise modifiziert, wohl kaum außerhalb des Laboratoriums angewandt werden wird.

Vor kurzem haben Bang und Bohmansson[1]) Entfärbung durch Tierkohle + 5%iger Salzsäure versucht und hierdurch die Eigenreduktion sehr stark herabgesetzt. In 20 Harnen, spezifisches Gewicht 1020 bis 1032, mit durchschnittlicher Totalreduktion von 0,342, wurde diese durch Entfärbung mit Knochenkohle und Salzsäure um 36% ermäßigt. Blutkohle ist noch besser. 30 Harne mit der Totalreduktion 0,207 gaben nach Entfärbung mit Knochenkohle und 5% HCl die Totalreduktion 0,105; Hiervon ziehen Bang und Bohmansson den von Lavesson für Männer gefundenen durchschnittlichen Zuckerprozentgehalt 0,041 ab und gelangen somit zu einer Eigenreduktion von nur 0,061% Dextrose. Diese Entfärbungsmethode ist weniger kompliziert als die Entfärbung durch Mercurinitrat, fügt der Arbeit aber doch ein nicht unerhebliches Plus hinzu.

Die beiden hier genannten Zahlen werden unten näher diskutiert werden.

Diese im Vergleich mit der Zuckermenge unverhältnismäßig große Eigenreduktion des normalen Harns, die nicht proportional mit anderen, leicht bestimmbaren Eigenschaften des Harns zu variieren scheint, macht es berechtigt, ein anderes Verfahren zu suchen, das dem Versicherungsarzte den bisher vermißten Ausgangspunkt einer gleichartigen Bewertung seines einschlägigen Materials bieten könnte.

Während einer Arbeit mit den sogenannten Sensibilisatoren bemerkte Hasselbalch gelegentlich, daß eine alkalische Eosinlösung, der man Traubenzucker hinzugesetzt hatte, sich bei Erwärmung abfärbte, indem sie einen schwach grünlichgelben Ton annahm, der an die Fluorescenzfarbe erinnerte, so daß die Lösung im auffallenden und im durchfallendem Lichte fast dasselbe Aussehen erhielt. Diese Beobachtung bildet die Grundlage der unten angeführten Untersuchungen.

Es erwies sich bald, daß die Reaktion ziemlich fein war; sie variierte mit der Konzentration der Eosinlösung und außerdem mit der Alkalescenz. Da indes der Farbenübergang bei den schwachen Eosinkonzentrationen weniger prägnant war, namentlich wenn die zuckerhaltige Flüssigkeit selber gefärbt war, lag es nahe, zu versuchen, ob es keine anderen Farbstoffe gäbe, deren Farbe in den schwachen Lösungen noch

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 443.

kräftig genug oder deren Empfindlichkeit größer wäre, so daß stärkere Konzentrationen zur Anwendung kommen könnten. Die Untersuchung ergab, daß eine ganze Reihe von Farbstoffen und Fluorescenten besteht, die sich ebenso wie das Eosin verhalten, während andere entweder keine Reaktion lieferten oder sich schon nach Zusatz von Alkali oder nach Erwärmung allein so stark veränderten, daß sie aus diesen Gründen außer Betracht bleiben mußten. Folgende Stoffe wurden geprüft und befunden als:

brauchbar	oder	unbrauchbar:
Eosin		Phenolphthalein
Erythrosin		Phloroglucinvanillin
Rose bengale		Rosolsäure
Methylenblau		Gentianaviolett
Fuchsin		Trypanrot
Thionin		Metaphenyldiamin-chlorhydrat
Indigocarmin		Alizarinsulfonsaures Natrium
Pyronin		Fluorescein
Dichloranthracen-disulfonsaures Natrium		Methylgrün
Safranin		Malachitgrün
Phenylhydrazin		Jodgrün
Lackmus		Brillantgrün

Unter der ersteren Reihe fand man namentlich das Safranin und das Thionin anwendbar, auch der Lackmus gab eine sehr deutliche Änderung der Farbe; diese Reaktion ging aber so schnell wieder zurück, daß fernere Versuche mit diesem Stoffe aufgegeben wurden.

Da die Brauchbarkeit der Reaktion in der Praxis, besonders in der Harnanalyse, dadurch bedingt wird, daß die Reaktion nicht mit anderen normalen Harnbestandteilen zustande kommt, mußte der nächste Schritt der sein, ihre Spezifizität zu untersuchen. Um über die Natur des Vorganges zur Klarheit zu gelangen, stellten wir zugleich eine Reihe von Proben mit Stoffen an, die zwar nicht im Harne vorkommen, die jedoch von einem gegebenen Standpunkte aus als mit dem Traubenzucker verwandt zu betrachten sind. Das Ergebnis war, indem die die Reaktion ergebenden Stoffe durch +, die keine

Reaktion ergebenden Stoffe durch ÷ bezeichnet werden, mit Bezug auf das Safranin:

Harnstoff	÷	Aceton	÷	Dextrose	+
Harnsäure	÷	Formaldehyd	÷	Maltose	+
Kreatinin	÷	Acetaldehyd	÷	Lactose	+
Albumin	÷	Benzaldehyd	÷	Arabinose	+
Dextrin	÷	Natriumhydrosulfit	÷	Xylose	+
Stärke	÷	Tartras ferrico-ammon.	÷	Lävulose	+
Glykogen	÷	Ammoniumsulfit	÷	Galaktose	+
Rohrzucker	÷	Hydroxylamin	÷		

Die letzte Reihe ist nach der Schnelligkeit geordnet, mit der die Reaktion zustande kam.

Mit Thionin gaben außer den Zuckerarten (mit Ausnahme des Rohrzuckers) auch das Dextrin und das Acetaldehyd +-Reaktion und, was von größerer Bedeutung war, sowohl die Harnsäure als das Kreatinin bewirkten ein bedeutendes Verblassen der Farbe. Dieser Stoff wurde deshalb verworfen und wir setzten die Versuche mit dem Safranin allein fort.

Eine Safraninlösung verändert sich nicht durch Zusatz von Alkali oder durch Kochen damit, wie auch ihre Farbe nach Zusatz der meisten der oben mit ÷ bezeichneten Stoffe unverändert bleibt. Durch Zusatz von Traubenzucker zu einer Safraninlösung von angemessener Alkalescenz, die genügend erwärmt, bzw. gekocht ist, erhält man eine charakteristische Farbenreaktion, indem die tiefrote Farbe verschwindet und die farblose Flüssigkeit einen gelblichen oder schwach rötlichgelben Ton, etwa wie helles Blutserum, annimmt.

Während die Empfindlichkeit der Reaktion zur Safraninkonzentration umgekehrt proportional ist, findet man für jede einzelne Safraninkonzentration eine entsprechende Alkalescenz, wo die Empfindlichkeit am größten ist. In saurer oder neutraler Flüssigkeit findet die Reaktion nicht statt.

Die Reaktion ist ein Reduktionsvorgang, der durch das Vorhandensein von Sauerstoff gestört wird. Das Gefäß darf deshalb während des Kochens nicht geschüttelt werden. Aus demselben Grunde erhält die entfärbte Flüssigkeit nach kurzem Stehen in der Luft ihre ursprüngliche rote Farbe wieder, und dieser

Rückgang wird durch das Schütteln des Gefäßes beschleunigt; bei wiederholter Erwärmung entfärbt sich die Flüssigkeit aufs neue, doch nicht so vollständig wie das erste Mal. Setzt man der entfärbten Lösung einen Tropfen Wasserstoffsuperoxydlösung von 30% zu, so kehrt die rote Farbe augenblicklich zurück.

Setzt man Wasserstoffsuperoxyd zu einer alkalischen, zuckerhaltigen Safraninlösung hinzu, so wird die Reaktion verhindert; bei darauffolgendem Zusatz von Natriumhydrosulfit tritt die Entfärbung aber sofort ein.

Die Reaktion wird ebenfalls durch Bleiacetat verhindert. Dies kann mehrfach begründet werden.

Löb[1]) hat angegeben, daß eine mit Bleiacetat behandelte Zuckerlösung Formaldehyd abspaltet, einen Stoff, der der Safraninreaktion gleichfalls entgegenwirkt; wahrscheinlicher ist aber die Annahme, daß das Bleiacetat sich spaltet und Sauerstoff abgibt, so wie es bei der Erwärmung des reinen Salzes der Fall ist.

Das Formaldehyd wirkt, wie bemerkt, hemmend auf die Reaktion; diese tritt aber dann ein, wenn mehr Alkali zugesetzt wird.

Wie das Safranin beim Stehen in der Luft „zurückgeht", so ergeht es auch allen anderen Farbstoffen, durch welche die Reaktion zustande kommt; ganz besonders gilt dies vom Lackmus.

Die hier behandelte Reaktion ist zweifelsohne prinzipiell die nämliche, die bei der nur wenig beachteten Mulderschen Indigoprobe[2]) stattfindet, die wir ebenfalls versuchten und anwendbar fanden. Da die blauen Farben, namentlich bei der Harnuntersuchung, indes weniger prägnante Farbenübergänge (Grün in Gelb) geben, liegt wohl kein Anlaß vor, diese Methode weiter auszubauen.

Die gefärbten Lösungen behalten beim Kochen mit Traubenzucker ihre Fluorescenz, während das Absorptionsspektrum verwischt wird oder verschwindet. Setzt man HCl bis zur sauren Reaktion zu, so verschwindet augenblicklich sowohl das Spektrum als auch die Fluorescenz, beide kehren aber sogleich zurück, wenn man die Lösung wieder alkalisch macht.

Nachdem wir verschiedene Versuchsanordnungen geprüft hatten, wählten wir die folgende, welche die besten Garantien

[1]) Diese Zeitschr. 23, 10.

[2]) Laache, Klin. Urinanalyse, S. 106.

für eine schnelle und zuverlässige Ausführung der Probe darzubieten schien:

Mittels einer Pipette oder aus einer Bürette mißt man gleiche Teile einer Safraninlösung 1:10000 und einer Lösung KOH 1:100[1]) in ein enges Reagensglas ab. Zu dieser Mischung setzt man mit Hilfe des Normaltropfenzählers eine Zuckerlösung bzw. den Harn. Nach Schütteln bringt man das Glas 3 Minuten lang ins siedende Wasserbad, worauf man das Resultat bewertet.

Hat man indes seine Reagentien auf eine bekannte Zuckerlösung eingestellt und die Anzahl Tropfen pro Kubikzentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit gefunden, so ist die Berechnung der Resultate eine leichte. Wir fanden mit Bezug auf die obengenannten Reagentien, daß 1 Safranin durch 0,25 mg Traubenzucker reduziert wird. Gibt der Tropfenzähler nun 20 Tropfen pro Kubikzentimeter und erhält man durch 2 Safranine mit 10 Tropfen + R, so findet man den Zuckergehalt der betreffenden Lösung in Milligramm pro Kubikzentimeter ausgedrückt durch die Formel $x = \frac{20 \times 2 \times 0{,}25}{10} = 1$, d. h. 0,1% Zucker. Als Tropfenzähler kann man ein kleines Meßglas benutzen, das mit einem Korkpfropfen versehen ist, durch den man die gebogene Spitze eines Normaltropfenzählers geführt hat; in den Pfropfen schneidet man eine Rille, die vor den Ausschnitt des Meßglases gedreht der Luft den Zutritt zum Glase gestattet. Der Vorzug bei der Benutzung eines Meßglases besteht darin, daß man hierdurch leicht imstande sein wird, seine Tropfenzahl pro Kubikzentimeter zu bestimmen, wenn dies ausnahmsweise von Interesse sein sollte. In der Praxis kann man mit 20 Tropfen pro Kubikzentimeter rechnen. Als Wasserbad gebrauchten wir ein gewöhnliches Becherglas, dessen Boden, um Stoßen während des Kochens zu vermeiden, mit einer Schicht granulierten Zinks bedeckt war. Um die Reagensgläser in Ordnung zu halten, steckten wir sie durch Löcher einer Asbestplatte, die als Deckel des Becherglases angebracht war. Das Bad wird auf einem Drahtnetze über einer Bunsenschen Flamme erwärmt.

---

[1]) Im folgenden wird 1 ccm Safraninlösung 1:10000 + 1 ccm KOH-Lösung 1:100 als 1 Safranin bezeichnet usw.

Am zweckmäßigsten wird es sein, die Safraninmenge so zu wählen, daß die Reaktion auf eine Tropfenzahl zwischen 7 und 12 fällt; eine geringere Tropfenzahl gibt zu große Differenzen, und eine höhere erschwert es, Proben auseinander zu halten, deren Unterschied nur einen einzigen Tropfen beträgt.

Hat man Grund zu der Vermutung, daß der Harn, den man vor sich hat, normal ist, so wählt man eine der kleinen Safraninmengen, z. B. 2 Safranine und setzt zu 3 Gläsern 6, bzw. 9 und 12 Tropfen Harn hinzu; man wird dann positive Reaktion bei einer Totalreduktion von 0,167, bzw. 0,111 und 0,083% Dextrose erhalten. Hiermit wird man sich meistens begnügen können. Wünscht man eine genaue Bestimmung, so wird es genügen, außerdem noch eine einzige Probe anzustellen. Geben in dem gewählten Beispiele 6 Tropfen ÷, 9 und 12 Tropfen aber + Reaktion, so gießt man in 4 Gläser 6, 7, 8 und 9 Tropfen. In dieser Reihe muß der gesuchte Wert zu finden sein. Nach einiger Übung wird man bei Tropfenzahlen unter 10 ohne Schwierigkeit das Resultat mit der Genauigkeit eines halben Tropfens bewerten können.

(Man kann zu einer „Schnelldiagnose" — mit allen Vorzügen und Mängeln einer solchen — gelangen, wenn man zu 3 Safraninen 10 Tropfen Harn hinzusetzt, das Reagensglas im Innern eines geräumigeren Reagensglases, das mit Wasser gefüllt ist, aufhängt — z. B. an einem gebogenen Kupferdrahte, den man um den Kragen wickelt — und das Kochen über der Flamme 3 Minuten dauern läßt. Wird das Resultat negativ, so enthält der Harn mit sehr großer Wahrscheinlichkeit $< 0{,}1\%$ Zucker, indem die „Eigenreduktion" als 0,05% berechnet wird [s. u.].)

Die Entfärbung läßt sich während des Kochens selbst gegen einen weißen Hintergrund beobachten; sicherer ist es aber, nach Verlauf der 3 Minuten geschwind die Gläser herauszunehmen, ohne sie zu schütteln, und sie darauf zu gleicher Zeit gegen eine weiße Unterlage zu betrachten.

Handelt es sich um Harn, der pathologische Zuckermengen enthält, so wird meistens eine Verdünnung erforderlich sein; mit Rücksicht auf die Größe der Gläser dürfte es kaum praktisch sein, die Proben an unverdünntem Harn zu unternehmen, wenn dieser mehr als 0,5% Zucker enthält. Man fängt deshalb mit 5 Safraninen und 5 Tropfen Harn an; erhält

man hier eine positive Reaktion, so muß man den Harn verdünnen; bei einiger Übung wird man aus der bis zur Entfärbung verfließenden Zeit begutachten können, um wie viele Mal man zu verdünnen hat, indem man am besten die Zuckermenge auf 0,1 bis 0,2% herabsetzen sollte. Ist dieses geschehen, so verfährt man wie oben genannt, doch beginnt man mit einer etwas größeren Safraninmenge, mit 2,5 bis 3 ccm.

Um ein Urteil über die praktische Genauigkeit und Brauchbarkeit der Methode zu erlangen, unternahmen wir eine Reihe von Untersuchungen teils an reinen Zuckerlösungen, teils am Harn gesunder und kranker Menschen. In sämtlichen Fällen stellten wir außer der Safraninbestimmung eine Bangsche Titrierung an; im Harn wurde die Zuckermenge als die Differenz zwischen Doppelbestimmungen vor und nach der Gärung bestimmt.

Um die Genauigkeit der beiden Methoden miteinander zu vergleichen, unternahmen wir folgende Untersuchungsreihe an einer reinen, sterilen Traubenzuckerlösung von 0,360% Dextrose und an daraus hergestellten Verdünnungen.

	Bang	Safranin	Fehler Bang	Fehler Safranin
Stammflüssigkeit	0,372 [0,360]	0,390 [0,360]	+ 0,012	+ 0,030
2/3 „	0,247 [0,240]	0,243 [0,240]	+ 0,007	+ 0,003
5/9 „	0,196 [0,200]	0,205 [0,200]	÷ 0,004	+ 0,005
2/5 „	0,138 [0,144]	0,138 [0,144]	÷ 0,006	÷ 0,006
1/3 „	0,117 [0,120]	0,127 [0,120]	÷ 0,003	+ 0,007
1/5 „	0,074 [0,072]	0,067 [0,072]	+ 0,002	÷ 0,005

Die eingeklammerten Zahlen geben den wirklichen Prozentgehalt an Zucker der untersuchten Lösungen an. Jede Zahl ist das Mittel einer Reihe, von gewöhnlich 10 Bangtitrierungen, bei den stärksten Verdünnungen jedoch nur von Doppelbestimmungen, oder, was die Safraninmethode betrifft, von einer Reihe von Proben mit wechselnden Safraninmengen und ebenfalls mit 10- bzw. 2facher Wiederholung einer einzelnen Bestimmung. Für jede einzige Zuckerlösung wurde die Tropfenzahl bestimmt.

Es geht aus der Tabelle hervor, daß das Optimum der Zuckerlösung mit Bezug auf die Safraninprobe etwa um 0,2% herum liegt, um denselben Wert, den Kinoshita[1]) mit Bezug auf 3 andere Methoden fand. Übrigens sieht man, daß bei beiden Methoden die Abweichungen ziemlich unerheblich sind, wenn man innerhalb der bereits genannten Grenzen in betreff der Zuckerkonzentration bleibt.

[1]) Diese Zeitschr. 9, 208.

36 Harne von 4 gesunden Individuen, 2 Männern (L., J.) und 2 Frauen (N., H.) gaben folgendes Resultat:

Versuchsperson	Anzahl der Bestimmungen	Bang		Safranin	
		Durchschnitt	Mittlere Abweichung	Durchschnitt	Mittlere Abweichung
N.	11	0,032	0,024	0,027	0,006
H.	8	0,017	0,016	0,024	0,008
L.	8	0,025	0,013	0,028	0,009
J.	9	0,037	0,015	0,033	0,017

Auch hier ist der Durchschnitt für beide Methoden derselbe, und die Abweichungen zeigen keine bestimmte Tendenz. Die mittlere Abweichung ist durchweg geringer bei der Safraninprobe; es möchte aber doch wohl zweifelhaft sein, ob es überhaupt zulässig ist, Bestimmungen als Wiederholungen zu betrachten, die an dem Harn verschiedener Tage ausgeführt wurden.

Teilt man das gesamte, systematisch untersuchte Material nach dem Zuckergehalt in Gruppen ein, ohne Rücksicht darauf, ob diejenigen Individuen, von denen der Harn herrührt, sonst gesund oder krank sind, so erhält man:

1. Harne mit $< 0{,}1\,\%$ Zucker[1]) „normale", Harne.

	Bang	Safranin
134 Harne von 47 Individuen[2]) ergaben im Durchschnitt	0,034	0,028

2. Harne mit $> 0{,}1\,\%$ $< 1{,}0\,\%$ Zucker, akzidentelle Glykosurien, leichtere Diabetesfälle.

	Bang	Safranin
33 Harne von 12 Individuen ergaben im Durchschnitt	0,268	0,178

3. Harne mit $> 1{,}0\,\%$ Zucker, diabetische Harne.

	Bang	Safranin
12 Harne von 6 Individuen ergaben im Durchschnitt	3,296	3,013

In der ersten Gruppe ist der Unterschied der Methoden ein unwesentlicher; die 3. Dezimale ist überall, auch was die Bangtitrierung betrifft, als Rechenziffer zu betrachten. Mit den anderen Gruppen zusammengehalten scheint es doch, daß schon hier die Safraninmethode eine Tendenz spüren läßt, sich niedriger als die Bangtitrierung zu erweisen, was in etwa demselben Verhältnisse in der 3. Gruppe wieder zum Vorschein

[1]) Die Zuckermenge überall bestimmt als die Differenz der Bangtitrierungen vor und nach der Vergärung des Harns.

[2]) Erwachsene beider Geschlechter.

kommt. Am deutlichsten ausgeprägt tritt dieses Verhalten jedoch in der 2. Gruppe hervor. Die meisten dieser Harne rühren von Patienten mit Herzkrankheiten her, haben hohes spezifisches Gewicht und sind dunkelfarbig (doch findet man auch einzelne diabetische Harne und „alimentäre" Zuckerharne). Es scheint, daß derartige Harne nicht nur rein zahlenmäßig eine besondere Gruppe bilden, da nämlich, wenn man der Einteilung die Resultate der Bangtitrierung zugrunde legt, trotz des bedeutenden Unterschiedes der Durchschnittszahlen, nur eine einzige der 33 Safraninbestimmungen einen Zuckergehalt niedriger als 0,1%, nämlich 0,083% zeigt.

Um womöglich die Ursache dieser systematischen Abweichung zwischen zwei in reinen Lösungen mit gleicher Genauigkeit arbeitenden Methoden zu erforschen, entschlossen wir uns, der Kontrolle wegen eine dritte Methode einzuführen.

Den ersten Versuch machten wir mit Lohnsteins sogenanntem Präzisions-Saccharimeter, das wir aber schnell wieder verließen, da dieser Apparat durchaus ungenaue Resultate ergab. Wir griffen deshalb zur Polarisation vor und nach der Gärung. Zur Vergärung des Harns benutzten wir in sämtlichen Fällen täglich frisch dargestellte, reingezüchtete und reingewaschene Hefe, während wir sonst gewöhnliche frische Preßhefe zu verwenden pflegten. Die Polarisation wurde in sämtlichen Fällen von demselben Untersucher angestellt, während der andere zu gleicher Zeit sämtliche Bangtitrierungen und Safraninbestimmungen unternahm. Diese Versuche ergaben an 17 Harnen von 6 Individuen:

Bang	Safranin	Polarisation
2,130	1,984	2,03

Es ist zu bemerken, daß die Übereinstimmung mit dem polarimetrischen Resultat in den einzelnen Fällen in betreff der Bangtitrierung die bessere ist; die Safraninzahlen schwanken stärker, ein Übelstand, der eine Folge des tropfenweisen Zusatzes im Verein mit der stärkeren Verdünnung der diabetischen Harne ist. Es scheint demnach, als ob die niedrigeren Werte mit Bezug auf die Safraninprobe dieser nicht ausschließlich anzurechnen seien, indem der Durchschnitt der Bangtitrierung, die Polarisation als Norm gerechnet, 0,1% zu hoch liegt.

Der Grund der systematischen Differenz ist sicherlich in der Vergärung zu suchen. Der vergorene Harn zeigte ziemlich oft ein abnormes Verhalten bei beiden Methoden, besonders aber bei der Bangtitrierung.[1])

Die Übereinstimmung der beiden Methoden ist mithin unbedingt eine bessere in den letztgenannten Versuchen, wo wir reinkultivierte, reingewaschene Hefe verwandten. Bei Bang-

[1]) Siehe C. Neuberg, Über einige Reaktionen vergorener Zuckerlösungen. Diese Zeitschr. 24, 430.

titrierung des Filtrats aus (mit Preßhefe vergorener) reiner Zuckerlösung verbrauchten wir in 2 Fällen 1,45, bzw. 0,75 ccm Hydroxylamin mehr als zur Entfärbung der reinen Kupferlösung; mit den stark verdünnten diabetischen Harnen gab die Bangtitrierung ebenfalls in der Mehrzahl der Fälle negative Werte der Eigenreduktion, und die Ausschläge waren meistens ebenso wie in den beiden obengenannten Fällen so groß, daß von Versuchsfehlern keine Rede sein konnte, um so weniger, da die schließliche Reduktion der sehr schwach gefärbten Flüssigkeit ebenso sicher war als die der reinen Zuckerlösungen.

Der Grund dieses Verhaltens ist uns unbekannt; es ist aber wohl eine wahrscheinliche Annahme, daß dieselbe Erscheinung auch bei den unverdünnten Harnen stattfindet, wo sie selbstverständlich durch die große Eigenreduktion maskiert wird, und daß wir hier eine der Ursachen der öfters erwähnten systematischen Abweichung zwischen den Resultaten der beiden Methoden haben.

Anderseits sahen wir einzelne Male bei der Bangtitrierung höhere Reduktionszahlen des vergorenen als des unvergorenen Harnes, so daß die Zuckermenge, als Differenz bestimmt, negativ wurde.

Die Safraninmethode zeigt nicht gar selten das sonderbare Verhalten des vergorenen Harns, daß Zusatz einer gewissen Tropfenzahl eine positive oder doch fast positive Reaktion ergibt, während Zusatz einer größeren Anzahl von Tropfen das Resultat wieder negativ macht. In solchen Fällen tritt gewöhnlich bei ganz kleinen Safraninmengen diese abnorme Reaktion ein, während sie bei einer größeren Safraninmenge völlig normal verläuft. Vielleicht mag eine Änderung der Alkalescenz bei den sehr kleinen Safraninmengen eine Rolle spielen; die Erscheinung tritt jedoch nicht nur in sauren Harnen ein, und es muß daher sicherlich noch andre Ursachen geben.

Diesen Übelstand bemerkten wir nur bei den ganz niedrigen Eigenreduktionen, höchstens bei 0,05%; nur ein einziges Mal sahen wir eine Ausnahme an einem Harn, dessen Eigenreduktion 0,111 betrug. Dieser Harn, der amphoter reagierte und Spuren von Albumin enthielt, stammte von einem Herzleidenden her, der Fergan benutzte; nach Zusatz von HCl brauste der Harn stark auf und hatte dann einen sehr unangenehmen, H_2S-artigen Geruch.

Dreimal trafen wir die anomale Reaktion bei unvergorenem Harn an. In dem einen Falle handelte es sich um den Harn eines Patienten, der Baldrian-Bromkalium erhielt; der Harn war sauer und ohne Albumin. Die Safraninprobe gab die Totalreduktion 0,031; die Bangtitrierung ergab vor der Gärung 0,111, nach derselben 0,140%, zeigte also ebenfalls durchaus abnorme Verhältnisse. Der zweite Fall war ein amphoterer Harn mit zweifelhafter Albuminreaktion; Totalreduktion mit Safranin 0,033%, Bangtitrierung 0,019% Zucker. Im dritten Falle handelte es sich um den Menstrualharn eines gesunden Individuums. Der blutgemischte Harn machte die direkte Anwendung der Probe zur Unmöglichkeit, dagegen verlief die Reaktion normal an dem gekochten, filtrierten Harn. Nur an einem einzigen Tage war diese auch an dem völlig hellen Filtrate unausführbar. Die Bangtitrierung zeigte an diesem Tage 0,006% Zucker. Während man die Safraninprobe direkt an albuminhaltigem Harn anstellen kann, läßt sie sich mithin an dem oben genannten blutgemischten Harn nicht ausführen, und ebenso kann sie bei eiterhaltigem Harn versagen. Zu wiederholten Malen kam diese abnorme Reaktion in vergorenem Frauenharn vor, der sich, ohne jedoch deutliche Eiterreaktion zu geben, nicht einmal durch ein zwei- oder dreifaches Filter klar filtrieren ließ.

Praktische Bedeutung für die Brauchbarkeit der Safraninmethode wird diese Beschränkung in ihrem Umfange wohl kaum erlangen.

Während das Mittel einer Reihe von Analysen reiner Zuckerlösungen, wie oben gezeigt, bei der Safraninmethode dasselbe ist wie bei der Bangschen Methode, variieren die Safraninbestimmungen der verschiedenen Zuckerkonzentrationen etwas mehr als die Bangschen Bestimmungen wegen des tropfenweisen Zusatzes der Zuckerlösung bei der ersteren Probe. In den am stärksten zuckerhaltigen Harnen wird das Verhalten ein ähnliches wegen der Verdünnung, die Abweichungen werden hier aber stärker pointiert (wir arbeiteten mit Verdünnung bis 1:40) und demzufolge finden wir die am meisten variierenden Zahlen der diabetischen Harne, wie angeführt, unter den Safraninbestimmungen, wenn die polarimetrisch gewonnenen Resultate der Beurteilung zugrunde gelegt werden. Anders, wenn man

mit unverdünnten Harnen arbeitet. Die Abweichungen werden hier bei der Bangtitrierung keineswegs kleiner als bei der Safraninbestimmung, indem die erstgenannte Reaktion an Sicherheit verliert, so daß ihr Fehlergebiet wenigstens ebenso groß wird als das der Safraninmethode in der hier genannten Anordnung.

Wie bereits Jessen-Hansen[1]) nachwies, ist es nicht einerlei, wie geschwind man die Hydroxylaminlösung zusetzt. Arbeitet man mit reinen Lösungen, und namentlich, wenn man deren ungefähre Stärke kennt, so ist es natürlich leicht, ein ganz gleichmäßiges Verfahren zu beobachten; arbeitet man aber mit Harn, dessen Zuckergehalt unbekannt ist, so ist es sehr schwer oder unmöglich, die von der Methode gestellten Bedingungen zu erfüllen. Die Endreaktion ist schwierig, da es sich um einen Farbenübergang aus Gelbgrün oder Braungrün in ein helleres oder dunkleres Gelb handelt, und ferner wird sie noch dadurch erschwert, daß oft Bodensätze in der Flüssigkeit entstehen, noch häufiger dadurch, daß sich eine dichte Schaumschicht an der Oberfläche der Flüssigkeit bildet. Besonders letzteres kann äußerst störend sein; gewöhnlich kann man dann weiter nichts tun, als mit fernerem Zusatz von Hydroxylamin zu warten, bis die Schaumschicht sich verdichtet hat; dies bewirkt aber eine Unregelmäßigkeit der Ausführung der Reaktion, die man kaum vernachlässigen darf.

Eine andere Schwierigkeit der Bangtitrierung ist die, daß man stets über gleich kräftiger Flamme kochen muß; es genügt nicht, daß man die gleiche Zeit hindurch kocht. 10 Titrierungen einer Zuckerlösung, bei denen die Probe 3 Minuten lang über der gewöhnlichen, ein wenig abgedämpften Flamme kochte, gaben im Durchschnitt 28,47 ccm Hydroxylamin, die mittlere Abweichung einer Einzelbestimmung 0,28 ccm; zwei andere Bestimmungen derselben Lösung, in unmittelbarem Anschluß an die oben genannten unternommen, doch über einer kräftigeren Flamme gekocht, ergaben beide 27,1 ccm Hydroxylamin. Wer mit der Ausführung der Methode nicht völlig vertraut ist, kann durch ein solches Verhalten leicht in Verlegenheit geraten.

Endlich scheint es seine Schwierigkeit zu haben, eine genaue Abstimmung der Titrierflüssigkeiten zu erlangen, wenn man darauf angewiesen ist, dieselben in der nächsten Apotheke bereiten zu lassen. Und verstreichen zwischen jedesmaliger Anwendung der Flüssigkeiten auch nur Wochen, so müssen sie aufs neue eingestellt und die Abweichungen durch Berechnungen korrigiert werden.

Alles in allem sind wir durch unsere Untersuchungen zu dem Resultate gelangt, daß man mit der Safraninmethode mit wenigstens ebenso großer Genauigkeit und ebenso großer Geschwindigkeit in normalen Harnen arbeitet wie mit der Bangtitrierung.

[1]) Diese Zeitschr. 10, 249.

Dies wäre indes kein genügender Grund, um eine sonst gute Methode zu verwerfen und eine neue einzuführen. Was die Bangtitrierung speziell in der Versicherungsmedizin, wo man zweifelsohne quantitative Zuckerbestimmungen einführen sollte und müßte, um über die Willkür hinwegzukommen, die eine unvermeidliche Folge der qualitativen Proben in ihrer jetzigen Form ist, unanwendbar macht, das ist die stark variierende, oft sehr große Eigenreduktion, die der in dieser Weise untersuchte Harn darbietet. In dieser Beziehung bringt die Safraninmethode einen sehr wesentlichen Fortschritt, indem sie, mit der Bangschen Methode verglichen, die Eigenreduktion auf etwa ein Viertel herabsetzt.

Die Bestimmung der Eigenreduktion in 179 Harnen von 47 Individuen gibt durchschnittlich:

Bang	Safranin
0,232	0,061

oder:

$$\frac{\text{Bang}}{\text{Safranin}} = \frac{3{,}8}{1}$$

Bei den früher erwähnten 4 gesunden Individuen fanden wir durch 36 Bestimmungen folgende Eigenreduktion:

			Bang	Safranin
N.	11	Bestimmungen	0,211	0,062
H.	8	„	0,215	0,051
L.	8	„	0,258	0,059
J.	9	„	0,403	0,114

Das letztgenannte Versuchsindividuum, ein sehr kräftiger, junger Mann, der auf starker Fleischdiät lebte, entleerte einen sehr dichten, stark sauren und sehr kräftig gefärbten, indicanreichen Harn, der die höchsten Zahlen der Eigenreduktion gab, die wir je bei gesunden Menschen angetroffen haben. Das Maximum war nach der Bangschen 0,553, nach der Safraninmethode 0,143. Während aber der hohe Wert nach der Bangschen Methode sich leicht durch eine ganze Reihe fast ebenso hoher Zahlen ergänzen läßt, ist dies mit Bezug auf die Safraninprobe nicht der Fall. Es finden sich in unserem gesamten Material von Safraninproben, im ganzen ca. 200, zwei Fälle mit größerer Eigenreduktion; sonst ist es eine Seltenheit, bis 0,111 zu gelangen.[1]) Der eine der beiden Fälle war der Harn eines Herzleidenden mit Glucosurie, spez. Gew. 1,032, gärungsfähiger Zucker 0,141% (Safran.). Die Eigenreduktion betrug hier 0,174, und sie rührte unzweifelhaft vor allen Dingen von Pentosen her; der vergorene Harn gab noch in der Verdünnung 1:3

[1]) Nimmt man die Versuchsperson J. aus, so wird diese Zahl nur 3mal überschritten.

sehr kräftige Reaktion mit Bials Reagens. Der zweite Fall war ebenfalls der Harn eines Herzleidenden, der zugleich Albuminurie hatte; spez. Gew. 1,028. Die Eigenreduktion war 0,147; auch dieser Harn gab kräftige Pentosenreaktion.

Was die Bangtitrierung betrifft, so rührt die Eigenreduktion nach Lavesson[1]) teils von Kreatinin und Harnsäure, teils von einem unbestimmbaren Reste her, der, wie früher erwähnt, in normalen Harnen 37,4 bis 67,4% der Totalreduktion bildet. Zu diesem Reste gehören natürlich unvergärbare Zuckerarten, u. a. Pentosen, die sich nach Untersuchungen von Cominotti[2]) gewöhnlich im menschlichen Harn nachweisen lassen; außerdem Farbstoffe, speziell das Urochrom, da deren Entfernung die Eigenreduktion stark herabsetzt; endlich gibt Sahli das Indican als einen Stoff an, der die Kupferlösungen reduziert.

Das Safranin wird nicht merkbar durch Kreatinin und Harnsäure beeinflußt, reagiert dagegen auf Pentosen und — wie aus Untenstehendem hervorzugehen scheint — auf Glucuronsäure. In 121 Fällen haben wir außer der Safraninprobe die Tollensche Naphthoresorcinprobe am Harne vorgenommen. Wir fanden:

in 29 Harnen von 14 Individuen Naphthoresorcinprobe + kräftig,
„ 92 „ „ 31 „ „ + schwach oder ÷.

In der ersteren Gruppe ergab die Safraninprobe die Eigenreduktion 0,095%, in der letzteren 0,054%.

In 44 Fällen, wo wir außer der Safraninprobe eine Indicanprobe unternahmen, fanden wir keinen nachweisbaren Zusammenhang zwischen der Intensität dieser Reaktion und der Eigenreduktion.

Wahrscheinlich hat das Urochrom auch bei der Safraninmethode Einfluß auf die Eigenreduktion; systematische Untersuchungen in dieser Beziehung haben wir aber nicht angestellt, eben weil wir eine Methode auszuarbeiten suchten, die sich ohne irgend eine der Vorarbeiten, die in der gewöhnlichen ärztlichen Praxis stets die Anwendbarkeit einer Methode erschweren werden, direkt auf den Harn anwenden ließe.

Nun haben Bang und Bohmannsson[3]) mittels einer relativ einfachen Entfärbungsmethode erreicht, die Eigenreduktion durch die Bangtitrierung auf eine ebenso niedrige Zahl herabzusetzen wie diejenige, die wir durch die Safraninmethode fanden. Die Zahl wird auf 0,06% angegeben. Hierzu ist jedoch zu bemerken, daß die an-

[1]) l. c.
[2]) Diese Zeitschr. 22, 106.
[3]) l. c.

gegebene Zahl zweifelsohne zu niedrig ist. Die verhältnismäßig kleine Serie von Harnen, mit denen Bang arbeitete, zeigt eine bedeutend geringere durchschnittliche Totalreduktion als z. B. Lavessons Harne, und auch als unsere weit größere Reihe. Bang und Bohmannsson fanden in ihrer Reihe eine Verminderung der Totalreduktion um rund 50% durch Entfärbung mit Knochenkohle und Salzsäure; von dieser Totalreduktion subtrahieren sie Lavessons durchschnittlichen Zuckerprozentgehalt, 0,04, für Männer, und somit gelangen sie zur Zahl 0,06 für die Eigenreduktion.

Ist aber Bangs Zahl für die Verminderung der Totalreduktion durch Entfärbung richtig, was man wohl annehmen kann, obschon seine Fälle verhältnismäßig nur wenig zahlreich sind, weshalb kann man dann nicht dieses Resultat auf andere Harne anwenden, deren Totalreduktion man kennt? Es würde Bang und Bohmannsson besonders nahe gelegen haben, dieselbe Berechnung auf Lavessons Material anzuwenden, dem sie ja doch die Angaben der Zuckerprozente entlehnten. Lavessons 30 Männer ergeben die Totalreduktion 0,238; dividiert man diese Zahl mit 2 und subtrahiert man den Zuckerprozentgehalt, so erhält man die Eigenreduktion 0,08. Unsere 36 obengenannten Bestimmungen geben nach ähnlicher Berechnung die Eigenreduktion 0,12, und endlich ergibt die erste Serie Bang und Bohmannssons die Eigenreduktion 0,13. Diese vier fast gleich großen Reihen geben eine Eigenreduktion nicht von 0,06, sondern von 0,10%. Nehmen wir unsere 179 Fälle mit einer durchschnittlichen Eigenreduktion (nach Bang) von 0,232 in unvergorenem, unverdünntem Harn und unseren durchschnittlichen Zuckerprozentgehalt in normalen Harnen (nach der Bangschen Methode) zu 0,034, so ergibt eine entsprechende Rechnung, daß nach Bang und Bohmannssons Methode für den entfärbten Harn die Eigenreduktion 0,10 beträgt. Diese Zahl liegt offenbar nahe der richtigen.

Ferner ist aber zu beachten, daß die Schwierigkeiten, selbst wenn der Durchschnitt der Eigenreduktion herabgesetzt wird, damit doch nicht überwunden sind. Es verlautet nichts darüber, daß die dichten, konzentrierten Harne durch die Entfärbung prozentweise stärker als die dünneren beeinflußt werden, was auch von vornherein nur wenig wahrscheinlich ist, da die Harnsäure und das Kreatinin durch den Entfärbungsvorgang nicht berührt werden. Wenn dem aber so ist, so wird man leicht ersehen, daß die fragliche Herabsetzung um ca. 50% in einer Reihe, die von 0,533 bis 0,047 reicht, für den einzelnen konkreten Fall ziemlich belanglos sein wird.

Die Entfärbung vermehrt die Arbeit auf das Doppelte, bringt aber nicht die entsprechende Sicherheit, wo es darauf ankommt, das Resultat einer isolierten Zuckertitrierung des Harns zu schätzen.

Bei der Safraninmethode wie bei allen anderen Methoden sind es die stark gefärbten, dichten Harne, die sogenannten „hochgestellten Harne", die Schwierigkeit bereiten. In diesen liegt die Eigenreduktion meistens um 0,10% herum. Wollte man daher in sämtlichen Fällen mit der durchschnittlichen Eigenreduktion — 0,06% — rechnen, so würde man gezwungen sein, an einigen derartigen Harnen noch weitere Untersuchungen anzustellen, bevor man dieselben für praktisch zuckerfrei erklärte. Über diese Schwierigkeit kann man hinwegkommen, wenn man das spezifische Gewicht des Harnes feststellt und sofern dieses mehr als 1,020 beträgt, mit einer Eigenreduktion von 0,10% rechnet; andernfalls setzt man die Eigenreduktion auf 0,05% an.

Es liegt in der Natur der Sache, daß es immer eine „Randzone" der normalen Harne gibt, einen Übergang zwischen dem, was man normal nennt und dem, was man für pathologisch hält. Dieses Intervall muß nach den bisher vorliegenden Untersuchungen zwischen 0,08 und 0,10% Zucker liegen. In allen solchen Fällen sollte man eine nähere Untersuchung anstellen, bevor man sein Gutachten abgibt. Vergärt man derartige Harne, was sich mit einem gewöhnlichen Reagensglas und bei Zimmertemperatur ja leicht tun läßt, und wiederholt man darauf die Safraninprobe, so wird man kaum jemals einem Irrtum ausgesetzt sein.

In der ganz überwiegenden Anzahl der Fälle wird indes eine einzige Bestimmung der Totalreduktion nebst der oben angeführten Korrektion der Eigenreduktion unzweideutigen und erschöpfenden Aufschluß über den Zuckergehalt des betreffenden Harnes geben.

Was die Dauerhaftigkeit der Reagenzien betrifft, so hat es sich erwiesen, daß schwache Eosin- und Erythrosinlösungen im Laufe von 3 Monaten am Sonnenlichte und in weißer Flasche vollständig verblassen. Die alkalische Safraninlösung ist ebenfalls nicht dauerhaft.

Am 21. I. setzten wir 2 solche Lösungen an ein sonniges Fenster, eine (a) in klarer, eine andere (b) in einer braunen Flasche.

Am 2. III. war die Flüssigkeit (a) völlig entfärbt mit Ausfällungen am Boden und an den Wänden der Flasche; die Flüssigkeit (b) war nur ganz schwach beeinflußt. Am 13. III. war auch (b) stark verblaßt, die Flüssigkeit zeigte jetzt aber eine ziemlich kräftige grüne Fluorescenz,

die in der frischen Lösung nur andeutungsweise vorhanden war. Das Spektrum hatte sich ebenfalls verändert, indem das Absorptionsband, das in der frischen Flüssigkeit einen Umfang von 550 bis ca. 455 $\mu\mu$ hatte, jetzt auf 540 bis 480 $\mu\mu$ begrenzt war.

Die reine wässerige Safraninlösung dagegen ist sehr dauerhaft. In der angewandten Verdünnung 1:10000 hält sie sich monatelang in farbloser Flasche, wenigstens wenn sie dem direkten Sonnenlichte nicht gar zu stark ausgesetzt wird. In einer Lösung, die 1 Jahr lang an einem sonnigen Fenster gestanden hatte, fanden sich Ausfällungen in der Flüssigkeit; die filtrierte Flüssigkeit war merkbar verblaßt und ihre Stärke als Reagens war auf etwa die Hälfte der ursprünglichen vermindert. (1 Safranin wurde durch 0,13 mg Traubenzucker reduziert.)

Eine konzentrierte Lösung 1:100, die frei im Laboratorium, aber nicht dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt stand, war nach Verlauf eines Jahres durchaus unverändert; die hieraus dargestellten Verdünnungen reagierten mit den obengenannten Zuckermengen (1 Safranin = 0,25 mg Traubenzucker).[1])

Da die Handelsware „Safranin" ein Gemisch aus mehreren Stoffen ist, darf man nicht von vornherein davon ausgehen, daß verschiedene Marken sich als Reagens in quantitativ gleicher Weise verhalten werden.

Das von uns verwandte Präparat war ohne Angabe der Bezugsquelle von Struer, Kopenhagen, geliefert worden. Dieses Präparat haben wir mit drei anderen Safraninen verglichen; zwei der letzteren (Safranin, rein — Grübler und Safranin O. W. — Grübler) erwiesen sich als so wenig von unserem Präparate abweichend, daß der Fehler ohne praktische Bedeutung ist; dagegen erwies sich das dritte Präparat (Safranin, extra G. — Kahlbaum) als etwas mehr abweichend, indem es sich, mit unserem Präparate verglichen, wie $\frac{383}{500}$ verhielt. Am sichersten wird es deshalb sein, seine Reagenzien jedesmal, wenn man das Präparat umtauscht, aufs neue einzustellen. Da indes eine

[1]) Des Vergleiches wegen mag angeführt werden, daß Bangs Titrierflüssigkeit, die an demselben Orte wie die konzentrierte Safraninlösung, die Hydroxylaminlösung in brauner Flasche, stand, sich im Laufe des Jahres dergestalt verändert hatte, daß 50 ccm Kupferlösung nicht mehr 50, sondern nur noch 43 ccm der Hydroxylaminlösung entsprachen. Siehe auch A. C. Andersen, diese Zeitschr. 26, 157.

konzentrierte wässerige Lösung sich Jahr und Tag hindurch erhält, wird eine derartige Einstellung nur selten erforderlich werden.

Zusammenfassung.

1. Eine alkalische Safraninlösung wird in der Wärme von Traubenzucker (und mehreren anderen Zuckerarten) reduziert, wodurch sie entfärbt wird.

2. Die Reaktion läßt sich zu quantitativer Zuckerbestimmung des Harns benutzen.

3. Diese Zuckerbestimmung bietet vor den bisher bekannten Methoden mehrere Vorzüge dar, und zwar:

a) Sie erfordert keine vorhergehende Ausfällung von Eiweiß.

b) Die „Eigenreduktion" des Harns ist selbst ohne Entfärbung wesentlich geringer als bei irgend einer anderen bisher bekannten Zuckerbestimmung des Harns; dies ist u. a. eine Folge davon, daß die Harnsäure und das Kreatinin die alkalische Safraninlösung nicht reduzieren. Die „Eigenreduktion" bei der Safraninbestimmung beträgt z. B. zirka $^1/_4$ derjenigen, die man durch die Bangsche Titrierung des nichtentfärbten Harns erhält.

4. Die Safraninbestimmung ergibt einen ebenso großen physiologischen Zuckergehalt des Harns wie die älteren Methoden. Wegen der geringen „Eigenreduktion" vermag man durch eine einzige Untersuchung den Zuckergehalt des Harns mit großer Annäherung zu bestimmen. Namentlich für die Versicherungsmedizin ist deshalb die Safraninbestimmung zu empfehlen.

5. Das Reagens ist in geeigneter Konzentration unbegrenzt haltbar, muß aber zu Anfang auf eine bekannte Traubenzuckerlösung eingestellt werden.

Die innere Reibung von Albuminlösungen.

Zugleich Bemerkungen zu der gleichnamigen Arbeit von L. Michaelis und B. Mostynski.[1])

Von

W. Pauli und R. Wagner.

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung der biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 10. Juni 1910.)

Mit 2 Figuren im Text.

In einer Untersuchung aus unserem Institute[2]) ist gezeigt worden, daß eine Anzahl von Säuren, zu einem sorgfältig dialysierten Serumalbumin zugesetzt, eine Viscositätserhöhung desselben bewirken, die bei zunehmendem Säuregehalt durch ein Maximum hindurchgeht, um darauf wieder abzusinken. Am stärksten ist dieses Verhalten bei Salzsäure ausgeprägt. Diese Erscheinung der Maximumbildung konnte von Michaelis und Mostynski[1]) bei einer Nachuntersuchung nicht wiedergefunden werden.

Wir können uns in den folgenden Ausführungen die Mühe ersparen, auf die leicht zu widerlegenden theoretischen Betrachtungen der genannten Autoren einzugehen, die gegen die Existenz dieser Erscheinung sprechen sollen, da sich dieselbe auch unter den von ihnen gewählten, von den unseren etwas abweichenden Bedingungen (Pferdeserum, Verdünnung $^9/_{10}$), leicht nachweisen läßt. Allerdings konnte das höchst auffällige und ausgiebige Phänomen des Viscositätsmaximums den Nachprüfern nur dadurch entgehen, daß hier

[1]) Diese Zeitschr. 25, 401.

[2]) Diese Zeitschr. 18, 340.

die primitivsten Grundsätze einer jeden Nachprüfung: Anwendung einer gleichen oder noch exakteren Methodik, sowie sauberes und gründliches Arbeiten, ins Gegenteil verkehrt worden sind.

Verschiedene sorgfältig dialysierte Rindersera vom Eiweißgehalt von 2%, deren Aschegehalt, elektrische Leitfähigkeit und Gefrierpunkt ebenso wie die Gerinnungstemperatur und das Verhalten gegen Alkohol zu verschiedenen Zwecken bestimmt worden waren, hatten regelmäßig ein Reibungsmaximum bei einer Konzentration von 0,015 n Salzsäure gegeben, wenn der Eiweißgehalt der Mischung durch Verdünnung des Serums (5:5) rund 1% betrug. Nach unseren Darlegungen war das Maximum bei der höheren Serumkonzentration von Michaelis (9:1) auch bei etwas höherem Säuregrade zu erwarten. In der Tat fand es sich auch (Tabelle I, Figur 1) bei 0,02 n HCl, während unsere Nachuntersucher gerade in den kritischen Konzentrationen zwischen 0,01 n und 0,1 n bei länger dialysierten Seren überhaupt keine Messungen vorgenommen haben. Wir haben selbstverständlich das improvisierte „Viscosimeter" von Michaelis, bei dem ein quantitatives Arbeiten vollständig ausgeschlossen ist, nicht akzeptiert, sondern mit den an unserem Institute in Tausenden von Messungen bewährten, in der Form und Ausflußzeit unseren Lösungen angepaßten Ostwaldschen Reibungsröhren im durchsichtigen Thermostaten bei 25° C ($\pm$ 0,02° C), nicht bei Zimmertemperatur wie Michaelis, gearbeitet. Da für den vorliegenden Fall die t/t_0-Werte infolge der geringen, dem Sinne und Maße nach gekannten Änderung des spezifischen Gewichtes der Lösungen, dem Gange der Reibungskoeffizienten gut entsprechen, konnten sie an Stelle der letzteren eingesetzt werden. Die Durchströmungszeiten (t für die Lösung, t_0 für Wasser) wurden in 0,2″ bestimmt und angegeben. Sämtliche Werte sind vorzüglich reproduzierbare Mittel (auf $\pm$ 0,15% bei verschiedenen Mischungen) aus je einer Reihe von Beobachtungen.

Tabelle I.

Reibungswerte t/t_0 für HCl-Pferdeserum (9 ccm Pferdeserum + 1 ccm Lösung) bei 25° C in 0,2″. Pferdeserum 52 Tage gegen destilliertes Wasser bei Zimmertemperatur und 10 Tage gegen strömendes destilliertes Wasser bei 30° C dialysiert. Gesamt-N = 0,273%, Eiweißgehalt = 1,703%.

Wasserwert des Viscosimeters $t_0 = 450$. Die mit einer Asteristik versehenen Werte sind mit einem Viscosimeter vom Wasserwert $t_0 = 492$ ermittelt.

Säure-konzentration	t-Werte	t/t_0-Werte	Säure-konzentration	t-Werte	t/t_0-Werte
0,00 n	490	1,0889	0,02 n	732*)	1,4878
0,001 n	489	1,0866	0,024 n	653	1,4511
0,0016 n	488	1,0844	0,03 n	642	1,4267
0,002 n	488	1,0844	0,04 n	666*)	1,3536
0,0024 n	489	1,0866	0,05 n	632*)	1,2845
0,004 n	496	1,1022	0,06 n	571	1,2689
0,006 n	508	1,1289	0,08 n	553	1,2289
0,01 n	595	1,3222	0,1 n	590*)	1,1991
0,016 n	631	1,4022			

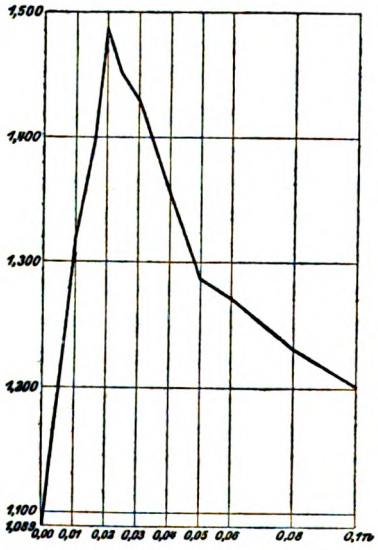


Fig. 1.

Bedürfte es bei der Mächtigkeit der Erscheinung noch eines weiteren Beweises für die Existenz des Maximums, so würde das von Schorr[1]) am Institut beobachtete Auftreten eines diesem Maximum genau entsprechenden Minimums der Alkoholfällbarkeit sowie ein dazugehöriger Knick in der Leitfähigkeitskurve und eine von Pauli und Samec[2]) entdeckte, völlig den verschiedenen Reibungskurven parallele Änderung im optischen Verhalten von Eiweißlösungen anzuführen sein. Alle diese Erscheinungen haben sich theoretisch auf eine gemeinsame Wurzel, den Unterschied zwischen ionischem und elektrisch neutralem Eiweiß zurückführen lassen.

Mit womöglich noch schlagenderer Deutlichkeit treten die Fehler der Michaelisschen Methodik in der zweiten in

[1]) Zit. bei Pauli, Kolloidchemische Studien am Eiweiß. Dresden 1908.

[2]) Eben vorläufig veröffentlicht. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch., 30. Juni 1910.

seiner Arbeit behandelten Frage zutage, der des Reibungsminimums von Eiweißlösungen bei niedrigen Säurekonzentrationen. Landsteiner und Pauli haben mittels eines verbesserten Überführungsapparates[1]) gezeigt, daß ein mit der größten Sorgfalt dialysiertes Serumeiweiß eine schwache Wanderung zum elektropositiven Pol erkennen läßt, die bei der älteren, weniger empfindlichen Versuchsanordnung Paulis[2]) nicht mit Sicherheit wahrzunehmen war. Diese Tatsache wurde bald darauf von Michaelis[3]) bestätigt. Ihre Erklärung liegt darin, daß Eiweiß als amphoterer Elektrolyt (Bredig) von größerer Säure- als Basendissoziationskonstante wie eine sehr schwache Säure in einem ganz geringen Anteile in elektronegative Eiweißionen und Wasserstoffionen dissoziiert. Ein Zusatz von H-Ionen zu einem solchen Eiweiß wird also zunächst dessen Dissoziation zurückdrängen und eine geringe Vermehrung der elektrisch neutralen Eiweißteilchen auf Kosten der ionischen zur Folge haben. Unsere experimentelle Erfahrung (Pauli, Schorr, Pauli und Handovsky) lehrt, daß eine Vermehrung der elektrisch neutralen Eiweißteilchen regelmäßig zu einer Abnahme der inneren Reibung und Zunahme der Hitze- und Alkoholgerinnbarkeit führt.

Michaelis[4]) hat nun in einer Reihe von Untersuchungen diese für das Eiweiß charakteristische H-Ionenkonzentration, deren Zusatz ein Maximum der elektrisch neutralen Teilchen — isoelektrischer Punkt von M. genannt — bewirkt, mit Hilfe von elektrischen Überführungsversuchen, Hitzekoagulations- und Reibungsbestimmungen nach Zugabe geschickt abgestufter Säuren festzustellen

[1]) Kongreß f. innere Med. 1908. Vgl. diese Zeitschr. 18, 356. Die von Michaelis an unserem Apparate angebrachten unpolarisierbaren Elektroden sind vollständig überflüssig. Wir haben bei der von uns gewählten Länge der zuleitenden U-Rohre niemals eine Fortleitung einer Reaktionsänderung zur Grenzschicht des untersuchten Kolloids beobachtet. Die von Michaelis zu den Elektroden von vornherein zugefügten Schwermetallionen wirken nicht weniger auf Eiweiß umladend als dort entstehende H-Ionen. Entscheidend ist nur die Entfernung von Elektrode zur Grenzschicht und die Vermeidung einer Differenz im Elektrolytgehalte zwischen Kolloid und der überschichteten Lösung. Vgl. auch V. Henri, diese Zeitschr. 16, 473.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 531.

[3]) Diese Zeitschr. 19, 181.

[4]) Diese Zeitschr. 24, 79.

geglaubt. In Wirklichkeit handelt es sich, wie unsere Nachprüfung ergab, in allen seinen Beobachtungen um die Bestimmung des Neutralisationspunktes bei einem durch unvollkommene Dialyse gewonnenen Alkalieiweiß.

Wenn etwa ein durch Halbsättigung mit Ammonsulfat und Filtration vom Globulinniederschlag befreites Serum der Dialyse ausgesetzt wird, so erweisen sich, wie man sich leicht überzeugen kann, Ammonium- und Sulfation verschieden fest, ersteres stärker, vom Eiweiß gebunden. Genauer ausgedrückt, es wird das Salzeiweiß infolge der schwächeren Basendissoziationskonstante des Proteins leichter hydrolytisch unter SO_4 als NH_4-Abspaltung zerlegt. Im Außenwasser darf deswegen nicht allein auf Verschwinden des Anions, sondern des viel länger nachweisbaren Kations als Merkmal der vollendeten Dialyse gefahndet werden. Während der Dialyse passiert das Eiweiß ein Stadium, worin es sich im wesentlichen als Alkalieiweiß verhält und seine Hitze- und Alkoholkoagulierbarkeit eingebüßt hat. Ähnlich liegen die Dinge bei der Dialyse von nativem Serum, wie schon von einer ganzen Reihe älterer Autoren[1]) beobachtet worden ist. Fortgesetzte Dialyse macht das Eiweiß wieder koagulabel, wobei dessen Gerinnungstemperatur stetig sinkt. Michaelis hat nun sämtliche Versuche zur Bestimmung des „isoelektrischen Punktes" mit einem als Alkalieiweiß reagierenden Serum ausgeführt, wie aus dem folgenden hervorgeht. Erstens hält er eine nach unseren Versuchen ganz ungenügende 5 bis 10tägige Dialyse von Ammonsulfatserum zur Salzbefreiung für ausreichend, weiter hat er nur auf das Sulfation im Außenwasser geprüft, während nach unseren Beobachtungen auch nach dessen Verschwinden noch Ammoniumion durch längere Zeit nachweisbar bleibt. Zwingend spricht für die Verwendung von Alkalieiweiß seitens Michaelis dessen Angabe, daß er sein Serum bis fast zum Sieden erhitzen konnte, ohne daß es zur sichtbaren Koagulation kam. Ein gut dialysiertes Serum koaguliert nach unseren jahrelangen Erfahrungen je nach der Verdünnung zwischen 50 und 60° C

[1]) Literatur siehe bei Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 53, 1907.

unter Entstehung einer völlig opaken feineren oder gröberen Flockung. Wir haben ganz analoge Verhältnisse wie bei nativem Serum auch bei der Dialyse von mit Ammonsulfat halbgesättigtem, globulinbefreitem Serum mittels fortlaufender Entnahme von Proben feststellen können. Michaelis konnte mit seinem unvollständig koagulierenden Serum sehr gut durch abgestufte Säuerung ein Maximum der Koagulierbarkeit gemäß der bewirkten Neutralisation bestimmen, während wir an unserem Eiweiß wohl in der leichteren Bildung größerer Flocken die Andeutung einer Wirkung der nach Michaelis' Vorschrift hergestellten Säurezusätze wahrnahmen, allein es war trotz der verschiedensten Variation der Versuche gänzlich ausgeschlossen, auf diesem Wege quantitativ verwertbare Resultate zu erzielen. Aus dem gleichen Grunde wie die Hitzekoagulationsversuche sind die parallelen Überführungsmessungen von Michaelis an denselben Eiweißlösungen, die den Umschlag von der anodischen in die doppelsinnige Wanderung im elektrischen Felde aufsuchen sollen, für die Charakterisierung der Eigenschaften eines reinen Serumeiweißes, auf die es allein ankommen kann, völlig wertlos.

In greller Weise treten die aus der unbrauchbaren Methodik und der Unreinheit der Proteinlösungen resultierenden Fehler bei den Versuchen unserer Nachprüfer zum Nachweise des Reibungsminimums im „isoelektrischen Punkte" hervor, und es muß im höchsten Grade befremdend wirken, daß Michaelis die offenkundigen Widersprüche in seinen Resultaten nicht einer Betrachtung gewürdigt hat. In Tabelle I zeigt ein 7 Tage dialysiertes Serum bei 0,02 n HCl-Gehalt eine niedrigere Reibung als das nur mit Wasser versetzte, in Tabelle II dagegen ein nur 3 Tage dialysiertes bereits bei 0,01 n eine höhere als die säurefreie Kontrollprobe. Dasselbe Serum zeigt keine Verschiebung der Säurekonzentration zur Erzielung seines Reibungsminimums bei Steigerung der Dialyse von 3 auf 9 Tage, eine Zeit, in der die größten Elektrolytmengen hinausdiffundieren, während bei der weiteren Dialyse das Minimum der Viscosität in tieferen Konzentrationen auftritt. Kraß ist der folgende Versuch 3, wo 6 Tage Dialyse genügen, damit bei 0,02 n HCl die Reibung höher ist als beim Wasserserum, während am 7. Tage sich dieses Verhalten umkehrt. In Versuchsreihe 4 genügen 6 Tage Dialyse, damit das Minimum bei 0,0025 n HCl-

Gehalt auftritt, während in Versuch 2 dazu 16 Tage notwendig sind. Diese Proben dürften, da die 4 Versuchsreihen das ganze mitgeteilte Material von Reibungsversuchen vorstellen, wohl genügen, um die Ungleichmäßigkeit und gänzlich mangelnde Reproduzierbarkeit der Resultate darzutun. Die absurde Schlußfolgerung, daß beim Globulin im Gegensatze zum Albumin die positiven Ionen eine kleinere, die negativen eine größere Reibung haben als das undissoziierte Globulin, bedarf unter diesen Umständen keiner Diskussion, zumal Hardy[1]), ein einwandfreier Beobachter, diese Frage bereits experimentell vor längerer Zeit erledigt hat. Die Ionisation führt hier, gleichgültig wie das Zeichen der Ladung, zur Reibungsvermehrung, ein Verhalten, das auch beim Leim nachgewiesen ist.

Wir haben für unser Serum das Minimum der Reibung bei niederem Säuregehalt aufgesucht. Es liegt bei 0,0016 n HCl-Gehalt (Tab. I). Die nebenstehende Figur 2 illustriert diese Beobachtung. Daß ein solches Minimum der Reibung existieren muß, erscheint als notwendiges Ergebnis unserer Arbeiten über den Zusammenhang von Viscosität und elektrischer Ladung der Eiweißteilchen. Wir halten jedoch auch unsere hier (Tab. I) gegebenen Daten, die sich nur wenig über die Fehlergrenzen der Methode erheben, noch nicht für den richtigen Ausdruck der Verhältnisse bei reinem Eiweiß, da selbst bei unserem Serum die Dialyse nicht so vollkommen ist,[2]) daß eine geringe Bildung von Alkalieiweiß ausgeschlossen werden kann. Bei der nicht unbeträchtlichen, reibungserniedrigenden Wirkung von Neutralsalzen auf das Eiweiß

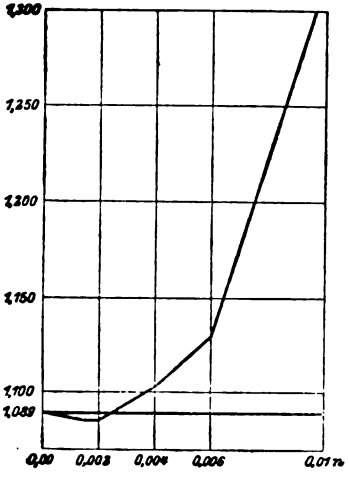


Fig. 2.

[1]) Journ. of Physiol. 33, 201.

[2]) Hier dürfte die elektrische Dialyse von Steele und Denison, sowie Dhéré und Gorgolewski einen Fortschritt bedeuten.

(Pauli und Handovsky[1]) können aber selbst minimale Mengen von Alkalieiweiß infolge ihrer Neutralisation durch Säurezugabe sehr merklich im Sinne einer Herabsetzung der Reibung wirken und die gewiß höchst subtile Erscheinung am reinen Eiweiß verdecken. Es werden also Verfeinerungen der Reinigungs- und physikalisch-chemischen Prüfungsmethoden noch nötig sein, um den kritischen Punkt eines Eiweißkörpers, auf dessen Wichtigkeit Michaelis mit Recht hingewiesen hat, messend zu definieren. Die Versuche von Michaelis, die sich als quantitative Bestimmung des „isoelektrischen Punktes" am Eiweiß geben, können als solche auch nicht in der gröbsten Annäherung irgend eine Geltung beanspruchen, und unsere Darlegungen lassen zugleich erkennen, daß nicht ein Übersehen uns von der naheliegenden Ausdehnung unserer Arbeiten in dieser Richtung vorläufig abgehalten hat.

Die Unrichtigkeit der Bemerkungen von Michaelis über die von uns ausgeführten Untersuchungen der Kombination von Salzen und Säureeiweiß soll bei einer anderen Gelegenheit im Zusammenhange mit einer entsprechenden Beleuchtung seiner Gaskettenmessungen ihre Erörterung finden.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 415.

Über die Hemmung der zerstörenden Wirkung neutraler Salzlösungen auf das befruchtete Ei mittels Cyankalium.

Von

Jacques Loeb.

(Aus dem Rockefeller-Institut, New York.)

(Eingegangen am 14. Juni 1910.)

1. Vor einem Jahre fand ich die aus früheren Versuchen zu erwartende Tatsache, daß die cytolytische Wirkung einer alkalischen Chlornatriumlösung auf das befruchtete Seeigelei durch Zusatz einer Spur Cyankalium[1]) oder durch Verdrängung des Sauerstoffs gehemmt werden kann.[2]) Es folgt aus diesen Versuchen, daß die Oxydationsvorgänge in der Zelle die cytolytische Wirkung einer solchen Lösung ermöglichen oder beschleunigen. Es blieb nun übrig, zu untersuchen, ob nicht auch die Giftwirkung einer neutralen Chlornatriumlösung auf das befruchtete Ei durch Sauerstoffmangel oder Unterdrückung oder Verzögerung der Oxydation im Ei mittels Cyankalium gehemmt oder verzögert werden kann. Schon vor vier Jahren hatte ich eine große Zahl derartige Versuche ausgeführt, weil ich damals bereits zu der Vorstellung eines Zusammenhangs zwischen den Oxydationen in der Zelle und der Wirkung resp. Giftwirkung der Salze gelangt war.[3]) Ich hatte nämlich gefunden, daß eine neutrale Chlornatriumlösung für das unbefruchtete Seeigelei (Strongylocentrotus purpuratus) praktisch unschädlich ist, während dieselbe für das befruchtete Ei höchst giftig ist.[4]) Diesen Unterschied hatte ich darauf bezogen, daß im befruchteten Ei

[1]) Loeb, Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Berlin 1909. S. 118.

[2]) Diese Zeitsschr. 26, 279 u. 289, 1910.

[3]) Diese Zeitschr. 2, 81, 1906.

[4]) l. c.

gewisse chemische Reaktionen, in erster Linie Oxydationen, viel rascher oder intensiver ablaufen als im unbefruchteten Ei. Ich hatte deshalb erwartet, daß die Unterdrückung der Oxydationen im Ei durch Sauerstoffentziehung oder durch Zusatz von Cyankalium die Giftwirkung einer neutralen Chlornatriumlösung für das befruchtete Ei aufheben müsse. Die Versuche ergaben aber damals kein positives Resultat. Ich kam neuerdings auf die Vermutung, daß das nur daher rührte, weil ich in meinen früheren Versuchen die befruchteten Eier immer nur unmittelbar nach der Bildung der Befruchtungsmembran benutzte. Um diese Zeit ist nämlich die giftige Wirkung einer neutralen Chlornatriumlösung ungefähr von derselben Größenordnung wie die des Sauerstoffmangels, und das Leben des befruchteten Eies wird in einer solchen Lösung durch Zusatz einer Spur von Cyankalium nicht merklich verlängert. Ich habe aber gefunden, daß, wenn man das Ei nicht unmittelbar nach der Befruchtung, sondern einige Stunden später für einen solchen Versuch benutzt, dasselbe viel rascher durch eine Chlornatriumlösung getötet wird; und daß sich alsdann die Giftwirkung der neutralen Chlornatriumlösung durch den Zusatz von einer sehr kleinen Quantität Cyankalium in ganz erstaunlichem Maße hemmen läßt. Es stellte sich ferner heraus, daß das auch für die Lösungen anderer Salze gilt: Die bis jetzt erzielten Resultate sollen in Kürze mitgeteilt werden, da infolge meines Umzugs nach New York meine Versuche eine vorübergehende Unterbrechung erleiden müssen.

2. Zur Methode der Versuche. Es sei kurz angegeben, was unter einer neutralen Lösung hier verstanden wird. Es wurden zu diesen Versuchen halbgrammolekulare Lösungen von NaCl, KCl, LiCl, RbCl, CsCl und $^3/_8$ m Lösungen von $CaCl_2$, $MgCl_2$ und $SrCl_2$ benutzt; d. h. Lösungen, die mit dem Seewasser angenähert isotonisch waren. Diese Lösungen gaben mit einem Tropfen Neutralrot (m/100) in 50 ccm der Lösung eine rote Farbe, die auf Zusatz von 1 bis 2 Tropfen einer m/100 Lösung von NaHO in Gelb umschlug. Vor dem Versuch wurden die Eier dreimal in Lösungen des Salzes, das zu dem Versuche dienen sollte, gewaschen, um alle Spuren Seewasser von ihrer Oberfläche zu entfernen. Gewöhnlich wurden die Eier 12 Stunden nach der Befruchtung zu diesen Versuchen

verwendet. Um diese Zeit hatten sie bei Zimmertemperatur (15°) das Blastulastadium erreicht, die Schwimmbewegungen hatten aber noch nicht begonnen. Um dem Verdacht zu entgehen, daß das im Cyankalium enthaltene Kalium für die Entgiftung verantwortlich sei, wurde den Salzlösungen, die kein Cyankalium enthielten, stets eine ein wenig größere Menge Chlorkalium zugesetzt.

3. Hemmung der Giftwirkung einer reinen Chlornatriumlösung durch KCN. Die Eier eines Weibchens werden 12 Stunden nach der Befruchtung in folgende Lösungen verteilt:

1. 50 ccm m/2 NaCl + 0,5 ccm m/40 KCl
2. 50 „ m/2 „ + 0,5 „ $^1/_{10}$ % KCN.

Die Eier, die in Lösung 1 gebracht wurden, waren nach 2 Stunden praktisch alle cytolysiert oder verfielen der „schwarzen" Cytolyse bald nach der Übertragung in Seewasser. Nach $2^1/_2$ Stunden waren in Lösung 1 alle Eier getötet.

In der cyankaliumhaltigen Lösung 2 waren nach $2^1/_2$ Stunden alle Eier intakt, und nach der Übertragung in Seewasser entwickelten sie sich zu völlig normalen, oben schwimmenden Blastulen und Gastralen — weiter wurde ihre Entwicklung nicht verfolgt.

Aber der Versuch fiel noch viel schlagender aus. Die nach 4 Stunden aus der cyankaliumhaltigen Chlornatriumlösung entfernten Eier entwickelten sich noch alle zu schwimmenden Larven, die noch ziemlich normal waren; die nach 8 Stunden aus der cyankaliumhaltigen Chlornatriumlösung in normales Seewasser übertragenen Eier entwickelten sich alle noch zu schwimmenden Larven, die aber schon stark gelitten hatten, wohl wesentlich infolge der Hemmung der Oxydationen; selbst von den nach 10 Stunden aus der cyankaliumhaltigen Lösung in Seewasser übertragenen Eiern entwickelten sich noch 80% zu allerdings sehr schlechten Larven.

Die schützende Wirkung des KCN kann nicht der Erhöhung der Alkalinität der Chlornatriumlösung zugeschrieben werden; in einer meiner nächsten Arbeiten werde ich zeigen, daß selbst die geringste Erhöhung der Alkalinität einer Chlornatriumlösung deren Giftigkeit erhöht. Ich habe bei jedem Versuch mit einer neutralen Salzlösung einen Kontrollversuch

mit einer leicht alkalischen Lösung desselben Salzes angestellt (0,1 m/10 NaHO zu 50 ccm der Lösung). Die Lösung von NaCl wurde durch Alkalizusatz stets giftiger.

Es folgt also aus diesem Versuche, der mit ähnlichem Erfolge wiederholt wurde, daß die Giftigkeit einer Chlornatriumlösung auf das befruchtete Seeigelei durch den Zusatz einer Spur von Cyankalium auf etwa ein Achtel ihres Wertes reduziert werden kann. Vermutlich wird die Giftwirkung der Chlornatriumlösung durch das Cyankalium völlig oder fast völlig aufgehoben, aber im Versuche kann das deshalb nicht zum Ausdruck kommen, weil die Hemmung der Oxydationsvorgänge im befruchteten Seeigelei durch Cyankalium allein schon relativ rasch zum Tode desselben führt.

4. In einer früheren Arbeit habe ich gezeigt, daß Zusatz von $CaCl_2$ zu einer NaCl-Lösung in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind (50 ccm m/2 NaCl zu 0,6 ccm m/2 $CaCl_2$), zwar die Umwandlung der Eier in „Schatten" hemmt, die sog. schwarze Cytolyse des Eies jedoch nur verzögert, aber nicht völlig aufhebt.[1]) Es war nun von Interesse, herauszufinden, ob die zerstörende Wirkung einer derartigen neutralen Mischung von NaCl und $CaCl_2$ ebenfalls durch den Zusatz einer Spur Cyankalium gehemmt werden kann. Die Eier eines Weibchens werden 12 Stunden nach der Befruchtung in folgende Lösungen verteilt:

1. 50 ccm m/2 NaCl + 0,6 ccm m/2 $CaCl_2$ + 0,3 ccm m/40 KCl,
2. 50 „ m/2 „ + 0,6 „ m/2 „ + 0,3 „ $^1/_{10}$ % KCN.

In Lösung 1 waren bereits nach 5 Stunden 90 % der Eier in der Lösung oder kurz nach der Übertragung in normales Seewasser zugrunde gegangen, und nur etwa 10 % entwickelten sich zu „partiellen" Larven. (In Parenthese sei bemerkt, daß in diesen letztern Eiern nur ein Teil der Zellen, in die das Ei zu Beginn des Versuches gefurcht war, in der abnormen Lösung zugrunde ging, während der Rest nach der Übertragung sich zur Larve entwickelte; diese Larven bezeichne ich hier kurz als „partielle Larven".) In 9 Stunden tötete die Lösung praktisch alle Eier. Die Eier leben also viel länger in einer calciumhaltigen Chlornatriumlösung, als in einer reinen Chlor-

[1]) Diese Zeitschr. 2, 81, 1906.

natriumlösung. Die Eier dagegen, die 5 Stunden in der cyankaliumhaltigen Lösung 2 gewesen waren, entwickelten sich alle zu normalen Gastralen — ihre Entwicklung wurde nicht weiter verfolgt; und selbst 75% der Eier, die nach 18 Stunden aus der cyankaliumhaltigen Lösung entfernt wurden, waren noch am Leben und imstande, sich weiter zu entwickeln! Normal waren sie freilich nicht mehr. Also auch hier zeigt sich eine sehr deutliche Hemmung der Giftwirkung durch Zusatz von Cyankalium.

5. Die Hemmung der Giftwirkung einer neutralen Lösung von LiCl durch Cyankalium.

Die Eier eines Weibchens wurden 12 Stunden nach der Befruchtung in folgende 2 Lösungen verteilt:

1. 50 ccm m/2 LiCl + 0,4 ccm m/40 KCl,
2. 50 „ m/2 „ + 0,3 „ $^1/_{10}$% KCN.

95% der Eier, die nach $1^1/_2$ Stunden aus Lösung 1 in normales Seewasser übertragen wurden, gingen an Cytolyse zugrunde; die übrigen entwickelten sich zu abnormen Blastulen. Die nach $2^1/_2$ Stunden aus dieser Lösung in normales Seewasser übertragenen Eier gingen alle zugrunde. Dagegen erwies sich Lösung 2 als viel weniger giftig. Die nach $1^1/_2$ Stunden aus der cyankaliumhaltigen Lösung 2 in normales Seewasser übertragenen Eier entwickelten sich alle zu schwimmenden Blastulen, und 70% der nach $2^1/_2$ Stunden aus dieser Lösung in normales Seewasser übertragenen Eier entwickelten sich noch. Die Eier blieben in einer cyankaliumhaltigen Chlorlithiumlösung etwa zwei- bis dreimal so lange am Leben, wie in einer solchen Lösung ohne Chlorlithium.

6. Hemmung der Giftwirkung von neutralen Lösungen von KCl, RbCl und CsCl durch KCN.

Bei dem Versuche mit einer neutralen KCl-Lösung kam der Umstand in Betracht, daß die befruchteten Eier nicht so rasch zugrunde gingen als in der neutralen NaCl-Lösung; infolge dessen kam die entgiftende Wirkung des Zusatzes von etwas Cyankalium nicht so klar zum Ausdruck, weil die schädliche Wirkung der Oxydationshemmung durch das Cyankalium die wahrscheinlich in starkem Grade vorhandene entgiftende Wirkung des letztern auf das Chlorkalium zum Teil verdeckte. Aber deutlich genug sind die Resultate immerhin.

Die Eier eines Weibchens wurden 12 Stunden nach der Befruchtung in folgende Lösungen verteilt:

1. 50 ccm m/2 KCl,
2. 50 „ m/2 „ + 0,3 ccm KCN.

Die nach 7 Stunden aus Lösung 1 in normales Seewasser übertragenen Eier lieferten nur 50% verkrüppelte partielle Blastulen; die nach dieser Zeit aus Lösung 2 in normales Seewasser übertragenen Eier entwickelten sich alle zu Blastulen, die aber infolge der Hemmung der Oxydationen nicht ganz normal waren.

Eine schwach alkalische Kaliumchloridlösung zerstörte die Eier viel rascher als eine neutrale Kaliumchloridlösung; die Hemmung der Giftwirkung einer alkalischen Kaliumchloridlösung durch Cyankalium war aber sehr deutlich, wie folgendes Beispiel zeigt. Die Eier eines Weibchens werden 12 Stunden nach der Befruchtung in folgende Lösungen verteilt:

1. 50 ccm m/2 KCl + 0,2 ccm m/10 KHO,
2. 50 „ m/2 „ + 0,2 „ m/10 „ + 0,3 ccm $^1/_{10}$% KCN.

Die Eier, die nach 4 Stunden und 20 Minuten aus Lösung 1 in normales Seewasser übertragen wurden, waren alle zerfallen oder zerfielen rasch. Von den um dieselbe Zeit aus Lösung 2 in normales Seewasser übertragenen Eiern entwickelten sich dagegen 90% zu schwimmenden Larven.

Die Versuche mit Calcium- und Rubidiumchlorid ergaben ebenfalls positive Resultate.

7. Versuche mit Lösungen von $^3/_8$ m $CaCl_2$, $MgCl_2$ und $SrCl_2$. Die Versuche mit einer Calciumchloridlösung ergaben eine Überraschung. Der Zusatz von etwas KCN hatte keine entgiftende Wirkung — es ließe sich eher gerade das Gegenteil behaupten. Eine zweite Überraschung war die, daß Zusatz von einer kleinen Menge $Ca(OH)_2$ die giftige Wirkung der $CaCl_2$-Lösung verringerte, aber nicht erhöhte. Eine Calciumchloridlösung verhielt sich also geradezu umgekehrt wie die Lösungen der Salze mit einwertigen Metallen.

Ich erwartete, daß $MgCl_2$ und $SrCl_2$ sich wie $CaCl_2$ verhalten würden. Das war aber nicht der Fall.

Ich möchte über diese drei Salze noch weitere Versuche anstellen, ehe ich diese Resultate als gesichert ansehe.

8. Schlußfolgerung. Die hier mitgeteilten Versuche beweisen, daß die giftige Wirkung isotonischer neutraler Lösungen von NaCl, KCl, LiCl, RbCl und CsCl auf das befruchtete Seeigelei durch Zusatz einer Spur von Cyankalium gehemmt wird.

Dieses Resultat läßt sich unter der Annahme verstehen, daß nur der hydrolytisch dissoziierte Teil eines Salzes mit der Zelle in Aktion tritt. Die Hydroxyde der einwertigen Metalle bilden mit einem oder mit mehreren sauren Bestandteilen der Zelle Salze, und es sind vermutlich diese Salze oder ihre Anionen, die der Oxydation verfallen. Es bilden sich bei der Oxydation einerseits cytolytisch wirkende Stoffe, die, wenn sie nicht durch zweiwertige Metallionen, wie Ca oder Mg, gefällt werden, die Zelle zerstören; andererseits bilden sich Stoffe, die sich mit Kalium verbinden müssen, um unschädlich zu werden.

Die Annahme, daß im allgemeinen nur der hydrolytisch dissoziierte Anteil eines Neutralsalzes in die Zelle eindringt oder physiologische Wirkungen ausübt, würde manche der Schwierigkeiten beseitigen, die heute dem Verständnis der physiologischen Salzwirkungen im Wege stehen.

Das negative Eisenhydroxyd.

III. Mitteilung.

Eisen und Arsen.

Von

H. W. Fischer und Erich Kuznitzky.

(Aus dem physikalischen Institut und der dermatologischen Klinik der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 14. Juni 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

a) Positive und negative Adsorption.

Nach früher mitgeteilten Erfahrungen[1]) haben wir jetzt Eisenpräparate in der Hand, die wir so genau kennen, daß wir ihre Eigenschaften nach Belieben beeinflussen können, die keine Embolie hervorbringen und — für Versuchszwecke — vertragen werden. Hier steigt aber ein sehr wichtiges Bedenken auf: Werden diese Eisenpräparate noch arsenige Säure oder die Ehrlichschen Arsenikalien adsorbieren?

Darauf können wir ganz allgemein die Antwort geben: Das wird abhängen von dem Vorzeichen und dem Betrage der Ladung des Kolloids, von dem Vorzeichen der Ladung des adsorbierten Stoffes und von der Affinität zwischem dem Adsorbens und dem adsorbierten Stoffe (dem, was Ehrlich etwa die Avidität nennen würde).[2])

Wir wollen zunächst überlegen, wie das Adsorptionsvermögen des Kolloids von dem Vorzeichen seiner Ladung abhängt. Die desinfizierende Wirkung z. B. des Atoxyls oder die Giftwirkung der arsenigen Säure liegt in dem negativen Komplexe, in dem Anion. Sie werden von dem gleichgeladenen Serum nur schlecht adsorbiert, müßten aber, aller Vor-

---

[1]) Diese Zeitschr.

[2]) Man kann die Ehrlichschen Arsenikalien bis zu einem gewissen Grade — ähnlich wie gewisse Farbstoffe — als Halbkolloide — auffassen.

aussicht nach, eine Neigung haben, mit positivem Eisenhydroxyd zu reagieren. Dieses kann ich aber nicht anwenden, weil dann das Tier sofort an Embolie zugrunde gehen würde. Negatives Eisenhydroxyd aber müßte alles Gleichgeladene elektrostatisch abstoßen, z. B. auch Atoxyl.

Die elektrostatische Abstoßung wird nun um so stärker sein, je mehr Ladungen das Kolloid adsorbiert hat. Der Betrag der Ladung ist nun, wie wir gesehen haben, einerseits abhängig von der Konzentration und der chemischen Natur des Schutzes, und andererseits von der Konzentration des Alkalis.

Das Eisenhydroxyd behält immer seinen Hang zur positiven Ladung. Wenn die Konzentration des Schutzes und des Alkalis klein wird, so beginnt es „positiv" zu adsorbieren, wie wir z. B. schon vorhin bei der Reaktion mit Serum gesehen haben. Einen Einblick in die Lage der Dinge geben folgende Versuche: Ferrocyankalium reagiert stets deutlich mit positiv geladenem Eisenhydrosol. Zwar tritt nicht die schöne Blaufärbung ein, aber das Kolloid verändert seine Farbe aus Rotbraun in ein mehr oder weniger dunkles Schwarz. Wahrscheinlich ist der Verlauf so, daß zunächst Ferrocyanion adsorbiert wird und dieses dann — zunächst mit den vorhandenen, später vielleicht mit den sich noch bildenden Eisenionen — reagiert. Da nun Eisenhydroxyd den violetten, Berliner Blau den roten Teil des Spektrums absorbiert, so muß das entstehende Gemisch freilich dunkel gefärbt sein. Diese Dunkelfärbung kann man ausnützen, um in alkalischer Lösung die Adsorption des Ferrocyanions zu verfolgen. Wir arbeiteten mit 5 ccm einfacher normaler Natronlauge + 2 ccm Glycerin, die nach Zusatz von 12,4 ccm Eisenchloridlösung noch klar und stark basisch, nach Zusatz von 13,2 ccm (13,3) nur noch sehr schwach basisch und leise getrübt waren. Nach Zusatz von 13,5 ccm (13,6) erfolgte der Ausfall. Setzt man nun bei Beginn der Titration etwas Ferrocyankalium hinzu, so tritt eine starke Dunkelfärbung nach Zusatz von 13,5 resp. 13,7 ccm Eisenchloridlösung auf. Wiederholt man denselben Versuch aber anstatt mit Glycerin mit 5 ccm einer konzentrierteren Mannitlösung, so tritt der Farbumschlag schon nach Zusatz von 13,2 ccm auf — also zu einer Zeit, wo die Lösung noch sicherlich ziemlich basisch ist —, trotzdem der Ausfallspunkt unverändert bei 13,6 liegen bleibt. Verdünnt man eine deutlich alkalische Lösung so weit, bis ein Ausfall eintritt, so färben sich die Flocken auch mit Ferrocyankalium an.

Diese Versuche lassen erkennen, wie die Konzentration und die Natur des Schutzes und des Alkalis die Ferrocyanadsorption beeinflussen. Arbeit man aber mit Ammoniak als Base, so tritt auch in mit Glycerin geschützter Lösung schon sehr früh die Verfärbung ein. Ammoniak ist augenscheinlich viel zu wenig dissoziiert, um auch bei relativ hoher Konzentration das Eisenhydroxyd stark aufladen zu können. Hier liegt wohl auch der Grund dafür, daß man in der quantitativen Analyse so gern Ammoniak und so ungern Kali- und Natronlauge verwendet. Die starken Basen werden infolge ihres hohen Dissoziations-

grades dem Niederschlag etwas aufladen und ihm selbst, wenn er ungeschützt ist, bis zu einem gewissen Grade die Eigenschaften einer Suspension geben, während das schwach dissoziierte Ammoniak die dazu nötige Ionenkonzentration niemals aufbringt.

Also Ferrocyanion wird auch in alkalischer Lösung etwas adsorbiert. Aber deswegen können die Arsenikalien sich ganz anders verhalten, denn die von einem Eisenhydroxyd bestimmten Ladungsbetrag adsorbierte Menge eines Stoffes hängt ja auch von der Affinität, die zwischen den Stoffen herrscht, ab. Z. B. bewirkt die sehr starke Affinität vom Eisen- zum Schwefelatom auch noch in sehr stark alkalischer und geschützter Lösung fast sofort den Eintritt einer Reaktion, bei der natürlich der negativ geladene Schwefel zuerst gegen die elektrostatische Abstoßung adsorbiert werden muß.

Wir müßten also zunächst prüfen, ob die Affinität zwischen dem Eisen und dem Arsen auch bei den Ehrlichschen Arsenikalien erhalten bleibt. Wir haben dazu mit Atoxyl gearbeitet, weil wir nur für dieses zurzeit eine bequeme und genaue Analysenmethode besitzen, die wir Igersheimer und Rothmann verdanken.[1])

Der Ausfall bei der Titration eines positiven Sols mit Natronlauge, resp. eines negativen Sols mit Salzsäure tritt schon dann ein, wenn die Flüssigkeit noch eine Spur sauer resp. alkalisch ist. Wir haben auf diesem Wege das Eisenhydroxyd aus der atoxylhaltigen Lösung entfernt. Das Resultat war bei positiv wie bei negativ geladenen Solen genau dasselbe: Das Atoxyl verschwand fast restlos aus der Lösung, derart, daß eine Lösung, in der 0,02 g Atoxyl vorhanden waren, nach der Ausfällung des Eisens sicher unter 0,002 g enthielt.

---

[1]) Der korrekteste Weg, die Frage zu entscheiden, wäre zweifellos der, daß man positive oder negative Eisenhydroxydlösungen mit wechselnden Mengen von Atoxyl mischt, das Eisenhydroxyd durch ein Bechholdsches Ultrafilter entfernt, und im Filtrat den Gehalt an Atoxyl ermittelt. Nun stand uns aber leider der kostspielige Ultrafiltrierapparat nicht zur Verfügung, und mit primitiven Mitteln konnten wir keine ausreichenden Mengen Filtrat bekommen. Für Demonstrationszwecke kann man sich eine Art Bechholdsches Ultrafilter sehr leicht auf folgende Weise verschaffen: Man befestigt im oberen Ende einer „Schleicher- und Schüll"schen Hülse mittels Schnur und Siegellack eine Glasröhre luftdicht, schiebt sie durch einen Gummikorken, und setzt diesen in eine Saugflasche ein. Das Filter läßt beim Saugen einige Tropfen Flüssigkeit durch, verstopft sich dann aber. So haben wir einen anderen Weg gewählt.

Auch die Gegenwart von Serum ändert daran nichts. Von den übrigen Arsenikalien sollte man aus Analogie dasselbe Verhalten erwarten.

Nach diesen Versuchen sollten wir folgendes annehmen: Injizieren wir ein Präparat, das so stark geschützt und alkalisch ist, daß es bei der Injektion eben keine Embolie hervorruft, so wird doch, nachdem es über das ganze Blut verteilt ist, die Konzentration des Schutzes klein geworden, das Alkali größtenteils durch die im Blute vorhandene Kohlensäure neutralisiert worden sein, so daß es sich nunmehr wieder positiv aufladen könnte. Sollte aber diese Umladung aus irgend welchen Gründen nicht eintreten, so war aus obigen Versuchen wenigstens zu erwarten, daß die Affinität ausreichend stark sein würde, gegen eine so schwache Ladung, wie sie durch die kleine OH-Ionenkonzentration erteilt wird, die Adsorption zu erzwingen. So aussichtslos es also auf den ersten Blick erscheint, die Arsenikalien oder arsenige Säure durch negatives Eisenhydroxyd adsorbieren zu lassen, so haben wir jetzt doch durch genaue Überlegung einen Weg gefunden, der uns zum Ziele führen muß.

b) Das Eisenhydroxyd als Gegengift gegen die arsenige Säure.

Leider ist es nicht angängig, die oben entwickelten Gedanken an den Arsenikalien zu prüfen, sie sind nämlich für unsere Zwecke zu ungiftig: Die tödliche Dosis für Mäuse bei Arsenophenylglycin beträgt 0,015 g, von Arsacetin gar 0,07 g pro 20 g Maus. Wie wenig giftig Arsenophenylglycin für Meerschweinchen ist, zeigt die Tabelle.

Meerschweinchen Nr.	Gewicht	Dosis	Stirbt nach Tagen
54	360	0,025	6
52	470	0,1	6
43	300	0,1	6
42	300	0,1	3
58	340	0,1	2
57	370	0,1	2
56	360	0,2	2
55	370	0,3	1
59	350	0,3	1
60	400	0,5	1

Auch für Kaninchen wirkt selbst eine Dosis von 0,3 pro Kilogramm erst in einigen Tagen tödlich.

Nr.	Gewicht	Dosis	Stirbt nach	
60	1990	0,3	4 Tagen	subcutan
59	1850	0,3	60 Stunden	intravenös
58	2120	0,3	bleibt leb.	subcutan

Da wir nun wegen der Giftwirkung des Eisenoxyds mit einer Dosis des Giftes arbeiten mußten, die im Verlauf von wenigen Stunden tötet, so hätten wir außerordentlich hohe Mengen verwenden müssen. Da nun unsere Eisenlösung etwa 2,5% Eisenoxyd enthält, so hätten wir also, um damit nicht ein gar zu starkes Mißverhältnis zwischen den Massen des Gifts und denen des Gegenmittels zu schaffen, wohl etwa 100 ccm oder noch mehr Eisenlösung in die Venen spritzen müssen, woran natürlich gar nicht zu denken ist.

So haben wir lieber mit der sehr viel giftigeren arsenigen Säure gearbeitet. Wir gewinnen so außerdem noch den sehr großen Vorteil, an eine große Menge sorgfältig ausgeführter Versuche angeschlossen zu sein, ja wir kennen sogar noch die von Biltz aufgenommene Adsorptionskurve. Die Versuchsergebnisse zeigen folgende Tabelle. Die Eisenlösung wird intravenös, die arsenige Säure subcutan gespritzt.

Nr.	Gewicht	Ars. Säure pro kg	Eisenlösung ccm	Stirbt nach
174	1420	0,03	0	1 St.
443	2230	0,03	0	1 „
191	1920	0,03	5	1 1/4 St.
204	2300	0,03	5,5	1 1/4 „
9	2000	0,01	0	12 „
20	1830	0,01	0	12 „
40	2140	0,01	2	12 „
42	2900	0,01	2	12 „
33	?	0	2 +2 nach 24 St.	10 Tagen

Die mit Eisenhydroxyd geschützten Tiere starben also genau gleichzeitig mit den anderen. Also müssen entweder bei der intravenösen Injektion Komplikationen eintreten, die verhindern, daß das Eisenhydroxyd die arsenige Säure adsorbiert, oder meine Präparate ganz unwirksame Gegenmittel sein.

Es ist vielfach bezweifelt worden, daß Eisenhydroxyd ein Gegenmittel gegen arsenige Säure ist. Schon bald nach dem Erscheinen der klassischen Arbeit von Bunsen veröffentlichte Ch. Schultz[1]) Versuche, nach denen er sowohl bei Kaninchen wie bei Meerschweinchen keine Schutzwirkung hatte feststellen können. H. Koehler[2]) arbeitete später mit einem durch Zucker geschützten, rotbraunen Kolloide und fand seine Präparate selbst gegen geradezu enorme Arsendosen wirksam, während Büsch[3]) dasselbe Präparat selbst gegen recht kleine Arsendosen nur sehr schwach wirksam findet. Von H. Heider[4]) hergestellte Präparate sind nach des Verfassers Angaben, den Bunsenschen — wohl nicht ganz — ebenbürtig, nach Büsch aber gänzlich unwirksam. Die Vorzüglichkeit der Bunsenschen Präparate wird von vielen anderen Autoren und auch von Büsch bestätigt, während sie nach Busscher[5]) höchstens die Lebensdauer etwas verlängern, während alle anderen Präparate gänzlich wertlos sind. Er schreibt aber allerdings auch nach Monaten erfolgte Todesfälle noch der Arsenvergiftung zu.

Aus dieser kurzen Literaturübersicht geht hervor, daß es sehr wahrscheinlich Eisenpräparate gibt, die ein gutes Gegenmittel gegen arsenige Säure sind, daß aber auch ganz unzweifelhaft noch viel mehr Eisenhydroxydhydrosole hergestellt worden sind, die als Gegenmittel unzureichend oder auch gar nicht wirken.

c) Die Gegenmittelwirkung von positiven und negativen Eisenhydrosolen.

Also müssen wir zunächst die Frage entscheiden, ob meine Präparate zu den wirksamen oder — vielleicht wegen ihres Chlorgehalts[6]) — zu den unwirksamen gehören. Ja wir müssen an meine Präparate sogar noch die Anforderung stellen, daß sie bedeutend wirksamer sind wie die Bunsenschen. Denn zunächst können wir nicht so große Mengen des Gegengiftes geben, wie es Bunsen getan hat. Er gab ca. das 20fache

---

[1]) Jahrbücher der gesamten in- und ausländischen Medizin, 20, 20, Berlin 1838.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 8, 373, 388, 1869.

[3]) Dissertation, Bonn 1893.

[4]) Dissertation, Bonn 1869: Das Ferrum oxydatum dialysatum als Antidotum bei Vergiftung mit arseniger Säure.

[5]) Arch internat. de Pharm. 10, 1902.

[6]) Bunsen warnt vor chlorhaltigen Präparaten.

der arsenigen Säure an Eisenoxyd. Danach hätten wir bei einem 2 kg schweren Kaninchen ca. 20 ccm des Gegenmittels in die Venen einspritzen müssen, also etwa $^1/_{10}$ der gesamten Blutmenge! Nun spielt sich der Bindungsprozeß zwischen dem Eisenoxyd und der arsenigen Säure bei den Bunsenschen Versuchen im Magen, bei den unsrigen in der Blutbahn der Tiere ab, d. h. in dem ersten Falle ist das Wirkungsfeld lokal sehr begrenzt, in dem zweiten dagegen ist die arsenige Säure bereits im Blute verteilt und muß von dem Eisenpräparat auf lange Zeit so fest gebunden werden, daß sie nur in minimalsten Mengen gelöst bleibt.

Da es nun möglich ist, daß bei der intravenösen Injektion Störungen eintreten, die die Schutzwirkung des Präparates verdecken, so haben wir nun unsere Präparate mit arseniger Säure gemischt und dieses Gemisch Kaninchen unter die Haut gespritzt, wobei zu erwarten war, daß die positiven Präparate ein stärkeres Adsorptionsvermögen für arsenige Säure haben wie die negativen. Wir haben also, um die Frage zu entscheiden, ob die Unwirksamkeit vielleicht an der negativen Aufladung liegt, sowohl positive wie negative Präparate verwandt.

Die Versuchsergebnisse zeigt die folgende Tabelle.

Kontrollen.

Nr.	Gewicht	Eisen ccm	Arsenige Säure pro kg	Stirbt nach Tagen
18	2000	12 $+ Fe_2O_3$	—	—
19	1810	12 $- Fe_2O_3$	—	—
20	1830	—	0,01	$^1/_2$
9	2000	—	0,01	$^1/_2$
51	1650	—	0,01	$^1/_2$

Die Versuche zeigen, daß selbst 12 ccm Eisenlösung unter die Haut gespritzt, das Tier nicht gefährden, ganz gleich, ob das Eisenhydroxyd positiv oder negativ aufgeladen ist. 0,01 pro Kilogramm arsenige Säure aber töten ein Kilogramm Kaninchen ziemlich genau in $^1/_2$ Tage.

Positive Eisenhydrosole.

Nr.	Gewicht	Eisenlösung ccm pro kg	Arsenige Säure pro kg	Stirbt nach Tagen	Sektion
14	2050	3	0,01	4	Arsenvergiftung
15	2500	5	0,01	1	„
16	2540	5	0,01	1	„
17	2000	5	0,01	2	„
38	1700	3	0,01	4	„
37	1600	3	0,01	24	nicht seziert

Die Versuche zeigen bei positiven Eisenhydrosolen eine zwar unverkennbare, aber — mit einer einzigen Ausnahme — ganz schwache und für unsere Zwecke jedenfalls nicht ausreichende Schutzwirkung. Das Leben der Tiere wird bestenfalls um einige Tage verlängert, aber alle sezierten Tiere zeigen deutlich die Spuren der Arsenvergiftung.

Da nun unsere Präparate noch erhebliche Mengen Kochsalz enthalten, weil sie mit Blut etwa isoosmotisch gemacht worden sind, so haben wir Versuche angestellt, ob positive, durch fortschreitende Dialyse gereinigte Präparate vielleicht bessere Resultate ergeben. Wir verwandten dazu ein von der Firma Merck uns gütigst überlassenes Präparat, was in Gestalt von festen rotbraunen Plättchen, die leicht im Wasser löslich sind, geliefert wird. Dieses wurde durch eine einen Monat lang dauernde Dialyse in der gewöhnlichen Art gereinigt und soll mit dem von Carlo Foà und Alberto Aggazotti[1]) identisch sein.

Präparat von Merck.

Nr.	Gewicht	Eisenlösung ccm pro kg	Arsenige Säure pro kg	Stirbt nach Tagen
50	1650	3	0,01	1
49	1700	2	0,01	$^1/_2$

Das Präparat schützt überhaupt gar nicht mehr. Das Präparat wird durch die fortschreitende Dialyse gealtert, denn ihm wird der schützende Elektrolyt entzogen, wie sich ja auch bei den Versuchen von E. Biltz und A. v. Vegesack[2]) ge-

[1]) Über die physiologische Wirkung kolloidaler Metalle. Diese Zeitschr. 19, 1.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 68, 357, 1909.

legentlich der Messung des osmotischen Druckes der Kolloide im Osmometer deutlich gezeigt hat.

Wir kommen jetzt zu den negativen Hydrosolen:

Negative Präparate.

Nr.	Gewicht	Eisenlösung pro kg ccm	Arsenige Säure pro kg	Stirbt nach Tagen	Sektionsbefund
10	2400	3	0,01	4	Pneumonie
11	2000	3	0,01	11	Multiple Abscesse
12	2600	5	0,01	7	Peritonitis purulenta
13	2010	5	0,01	4	Lungenseuche
35	1800	3	0,01	9	
36	1900	3	0,01	20	Multiple Abscesse
52	1900	3	0,01	—	—
54	1920	3	0,01	4	Lungenseuche

Die Präparate zeigen eine ausgesprochene Schutzwirkung. Trotz der kleinen Menge des Gegenmittels, die meistens nur das 6fache der Arsenmenge beträgt, leben die Tiere meistens viele Tage lang. Eins stirbt überhaupt nicht. Bei keinem der Tiere läßt sich eine Arsenvergiftung mit Sicherheit nachweisen, sie sind ganz unzweifelhaft an anderen Krankheiten, nämlich an Lungenseuche, Abscessen usw. gestorben.

Selbst wenn ein alkalisches Präparat nach langem Stehen geliert, wird seine Wirksamkeit nicht sehr beeinträchtigt, wie die folgenden Versuche zeigen, bei denen ein geliertes Präparat als Schutzmittel verwandt worden ist.

Negatives Gel.

Nr.	Gewicht	Eisenlösung pro kg in ccm	Arsenige Säure pro kg	Stirbt nach Tagen
46	2020	3	0,01	7
45	1740	3	0,01	—

Daß also gerade die alkalischen Präparate imstande sind, sehr starke Gegenmittelwirkung auszuüben, kann nach diesen Versuchen nicht mehr bezweifelt werden.

Wir haben diese Versuche mit arsenigsaurem Natron an Stelle der arsenigen Säure wiederholt. Die Ergebnisse zeigt die folgende Tabelle.

Nr.	Gewicht kg	Natr. arsenic. pro kg	Eisenlösung pro kg in ccm	Stirbt nach Tagen	Sektionsbefund
			Kontrolle.		
24	2,3	0,015	0	1/2	As. Intox.
			Positive Präparate.		
28	1,8	0,015	3	1	„ „
27	1,6	0,015	3	1/2	„ „
30	2,0	0,015	5	2	„ „
31	2,7	0,015	5	2	„ „
			Negative Präparate.		
25	2,2	0,015	3	4	Pneumonie
26	2,1	0,015	3	1/2	Coccidiosis
29	2,1	0,015	5	30	nicht seziert

Wieder zeigt sich genau dasselbe Verhältnis, die positiven Präparate schützen schwach, aber erkenntlich, die negativen dagegen stärker.

d) Der Arsenschutz.

Wie wir gesehen haben, üben sowohl positive wie negative Präparate eine Gegenmittelwirkung aus. Die negativen aber in stärkerem Grade wie die positiven. Das ist in höchstem Grade auffallend, denn nach unserer Theorie sollten ja die negativen Präparate schlechter schützen wie positive — wegen der elektrostatischen Abstoßung — oder allerhöchstens, wenn die „Avidität" sehr groß wird, ebenso gut wie diese. Aus dieser Tatsache folgt ohne weiteres, daß in unseren Prämissen ein Fehler enthalten sein muß. Da es nun sicher ist, daß sich gleichgeladene Körper abstoßen, so bleibt bloß übrig, daß die zweite Annahme, daß sich das Eisenhydroxyd mit der arsenigen Säure zu einer Art Kolloidsalz vereinigt, falsch ist. Also bilden das Eisen und Arsen zusammen nicht einen elektrisch sozusagen neutralen Komplex, sondern einen elektronegativen, dessen Bildung in alkalischer Lösung natürlich leichter vor sich geht. Wenn diese Vermutung richtig ist, so müßte die arsenige Säure das Eisen „schützen", genau so, wie es Glycerin tut.

Wie der eine von uns (Fischer) das im Versuche prüfte, zeigte sich die arsenige Säure auch tatsächlich als ein Schutzmittel, das dem Glycerin resp. Mannit gewachsen, wenn nicht überlegen ist. Die Titration geht bei auffallend schwach gefärbter Lösung sehr scharf zu Ende.

Diese Schutzwirkung der arsenigen Säure erklärt auch die Tatsache, die uns beim Mischen der negativen Eisenhydrosole mit der arsenigen Säure aufgefallen ist, nämlich, daß sie auch bei recht schwach basischen Lösungen niemals Ausfällung macht.

Von den anorganischen Stoffen ist die arsenige Säure übrigens nicht der einzige, der Eisenhydroxyd zu schützen vermag, sondern auch die ja gleichfalls dreiwertige Borsäure besitzt, wenn auch in schlechterem, so doch in recht deutlichem Grade dieselbe Fähigkeit. Übrigens ist hier auch wieder die Anzahl der Hydroxylgruppen ziemlich gleichgültig, denn es existiert auch ein von William Duncan[1]) beschriebener, negativer Komplex aus Arsensäure und Eisenhydroxyd. Die Säuren des Phosphors sind leider nicht geprüft worden (Fischer).

e) Das Versagen des Eisenhydroxyds.

Wir gingen jetzt also noch einmal dazu über, Tierversuche anzustellen, und zwar spritzten wir direkt ein Gemisch von einem negativen Eisenhydrosol und arseniger Säure in die Venen:

Nr.	Gewicht	Eisenlösung pro kg ccm	Arsen. S. pro kg	Stirbt nach Tagen
53	1750	3	0,01	1
55	1550	3	0,01	$^1/_2$
48	1560	5	—	$2^1/_2$

Die Versuche zeigen, daß den alkalischen Präparaten bei intravenöser Injektion keine Schutzwirkung mehr zukommt, selbst wenn das Präparat mit der arsenigen Säure gemischt ist. Und das ist mit den Versuchen von S. 315, wobei das Gegenmittel und das Gift getrennt gegeben wurden, in bester Übereinstimmung. Es ist also gar keine Frage, daß bei intravenöser Injektion das Eisenhydroxyd seine Eigenschaft, als Gegenmittel zu wirken, verliert.

Das könnte es, wie wir gesehen haben, vielleicht z. B. dadurch tun, daß es sich umlüde, positiv würde und nun viel schlechter schützte. Diese Annahme läßt sich leicht widerlegen: nämlich, in den Organen, besonders in der Leber und Niere, der mit Eisenhydrosolen gespritzten Tiere häuft sich das Eisen an. Prüft man nun bei der Sektion einen Schnitt durch das Organ mit Ferrocyankalium, so tritt keine Reaktion ein. Erst wenn man mit Salzsäure ansäuert, findet man die intensive Blaufärbung. Das Eisen ist also negativ geblieben.

---

[1]) Pharmac. Journ. 4, 20, 71 bis 72, 1905.

Man könnte denken, daß durch die Verdünnung — etwa auf das 25fache durch das Blut — die arsenige Säure aus dem Eisenhydroxyd herausgelöst wird. Aber auch das ist nicht wahrscheinlich. Da es sich um eine reine Verdünnungswirkung handeln, und die arsenige Säure durch die im Blute vorhandenen Stoffe nicht weiter beeinflußt werden soll, darf eine Verdünnung mit Blut nicht anders wirken wie eine mit Wasser.

Die Konzentration nun, die ein Kaninchen in 12 Stunden tötet, ist, wie wir gesehen haben, 0,02 g auf 200 ccm (Blut). Damit nun diese Konzentration bei Gegenwart von Eisenhydroxyd erreicht wird, muß in dem kolloidalen Eisenoxyd nach Biltz' Versuchen die Massenkonzentration zirka $^1/_2$ herrschen,[1]) d. h. die von mir injizierten 0,12 g Eisenhydroxyd müßten etwa 0,04 g arsenige Säure enthalten. Zusammen mit der tötenden Menge von 0,02 g ergäbe sich 0,06 g oder das 3fache der von mir überhaupt angewandten Arsenmenge. Dabei ist noch gar nicht einmal in Rechnung gesetzt, daß meine Präparate als negativ geladene Körper und vor allen Dingen als ganz junge Hydrosole den Biltzschen Präparaten an Adsorptionsvermögen weit überlegen sein müssen. Denn Biltz hat ja seine Gele durch Kochen usw. absichtlich sehr stark gealtert.

Ich befinde mich bei meinen Versuchen durchaus in dem Gebiete, wo die Adsorption fast „vollständig" ist, wo, wie der Analytiker sagt, „auch durch langes Auswaschen die Verunreinigung nicht zu entfernen ist", oder wo — um mit Freundlich und Neumann[2]) zu sprechen — der Farbstoff „echt" färbt (Fischer).

f) Das Eisen im Organismus und das Arsen.

Es bleibt also nur noch die Annahme übrig, daß dem Eisenhydroxyd die arsenige Säure durch einen anderen Stoff, der gleichfalls ein starkes Adsorptionsvermögen für arsenige Säure hat, entrissen wird.

Welcher Stoff das ist, darüber sind wir natürlich zunächst auf Vermutungen angewiesen. Da nun, wie ich an anderer Stelle ausführlich zeigen werde und im ersten Teile dieser Arbeit auf S. 237 kurz erwähnt habe, das Eisen in meinen Präparaten etwa auf dieselbe Art chemisch gebunden sein mag wie im Hämoglobin und in den eisenhaltigen Oxydasen des Körpers, so liegt es sehr nahe, das Hämoglobin- oder Oxydaseneisen als den adsorbierenden Stoff anzusprechen. Bei der extremen Jugend dieser glänzend geschützten Stoffe und ihrer verhältnismäßig großen Menge wäre es ohne weiteres verständlich,

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 3, 3138, 1904.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 67, 538, 1909.

daß sie sich, sobald das Gemisch aus der arsenigen Säure und dem Gegenmittel in die Blutbahn gelangt, fast augenblicklich der arsenigen Säure bemächtigen.

Es spricht vieles dafür, daß solche Beziehungen zwischen den Arsenikalien und dem Eisen im Körper bestehen; zunächst sind, wie bekannt, Arsenikalien ein wirksames Mittel gegen die perniziöse Anämie. Bei dieser Krankheit geht ein Teil des Eisens im Körper aus der vorzüglich geschützten Form des Hämoglobins in Stoffe über, die viel schlechter geschützt sind. Denn die Zerfallsprodukte, die sich in der Leber anhäufen, reagieren nach dem Ansäuern schon mit Ferrocyankalium, was Hämoglobin bekanntlich nicht tut. Nun könnte vielleicht die Wirkung der arsenigen Säure, die ein starker Schutz ist, darin bestehen, daß sie dem versagenden Schutz aufhilft, oder daß sie sich im Hämoglobin ansammelt und die negative Ladung der Blutkörperchen steigert. Tatsächlich finden auch Strasser und Neumann[1]), daß sich die Arsenpräparate in den roten Blutkörperchen anzuhäufen und diese zu härten scheinen.

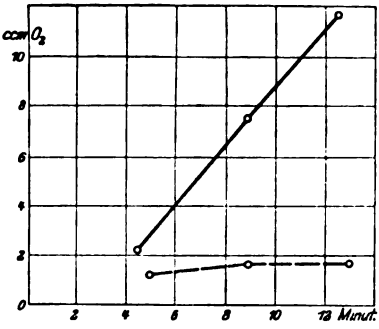


Fig. 1.

Ebenso müßte die arsenige Säure auch von den eisenhaltigen Oxydasen stark adsorbiert werden. Nun haben aber die nur mit arseniger Säure geschützten Präparate die Fähigkeit, sich durch Wasserstoffsuperoxyd zum „Hämoglobinoxyd" aufoxydieren zu lassen, nur in sehr schwachem Grade. Durch einen Zusatz von arseniger Säure wird auch die Beschleunigung der Wasserstoffsuperoxydzersetzung durch glyceringeschützte, negative Sole erheblich herabgesetzt, wie die Kurven der Figur zeigen. Die gestrichene Kurve gehört einer stark geschützten Eisenhydroxydlösung an, die durch eine nicht unerhebliche Menge arseniger Säure stark vergiftet ist. Bei sehr kleinen Mengen arseniger Säure ist der Einfluß wenig merklich. Sie ist

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1909.

kein sehr starkes Gift, wie auch Bredig (beim Platin) gefunden hat.[1]) Nun scheint nach Fischers, an anderer Stelle zu veröffentlichenden Material der Verlauf der Reaktion der zu sein, daß sich aus dem Eisenhydroxyd und dem Wasserstoffsuperoxyd das rote „Hämoglobinoxyd" bildet, das dann seinerseits wieder zerfällt. Die arsenige Säure hat augenscheinlich die Wirkung, die Bildung des Superoxyds zu erschweren.

Werden nun die eisenhaltigen Oxydasen vergiftet und die Superoxydbildung gestört, so muß natürlich die Energie der Oxydationsreaktionen unter dem Sauerstoffmangel leiden. Die leichter verbrennbaren Körper werden wohl noch oxydiert werden, aber die schwer verbrennbaren (d. h. die Fette) müssen übrig bleiben.

Deswegen muß man erwarten, daß, je mehr Oxydase ein Organ enthält, es um so stärker bei einer chronischen Arsenvergiftung verfetten wird.

In einer schönen Arbeit untersucht W. Spitzer[2]) den Oxydasegehalt der Organe und findet, daß von den Organen außer dem Blute besonders noch die Leber die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds in hohem Grade beschleunigt. Aus der Leber wird auch der stärkste Extrakt gewonnen. Der wirksame Stoff ist zweifellos ein Kolloid, der durch Salzsäure gefällt, durch Soda gelöst wird und in heißem Wasser aufquillt. Der Stoff enthält 0,23% Eisen, das sich in einer sehr festen organischen Verbindung befinden muß, die der im Hämatin entspricht.

Der Körper ist ganz unzweifelhaft ein außerordentlich stark geschütztes Eisenpräparat. Die Leber hat also wahrscheinlich den stärksten Gehalt an Eisenoxydase, und so wird unsere Vorhersagung bestätigt, daß sie bei der chronischen Arsenvergiftung besonders stark verfetten muß.

Dieses Eisen ist nach Spitzer durch Nucleinsäure geschützt. Da nun die Nucleinsäure eine sehr große Anzahl von Hydroxylgruppen in Gestalt von Zucker und Phosphorsäuremolekülen enthält, so scheint das Eisen außer anderem unter einem ganz gewaltigen Hydroxylgruppenschutz zu stehen.

Schluß.

Trotzdem es uns gelungen ist, Präparate herzustellen, deren Gegenmittelwirkung bei der subcutanen Injektion zu den schönsten Hoffnungen berechtigte, sind wir bei der Injektion in die Blutbahn an dem — wie wir annehmen — überlegenen Adsorptionsvermögen des Eisens im Organismus gescheitert. Nach

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. 37, 1, 1901.

[2]) Pflügers Archiv 67, 615, 1897. Weitere Literatur siehe dort.

meiner Ansicht dürfte es zwecklos sein, die Versuche mit einem dem Eisenhydroxyd analogen Kolloide wieder aufzunehmen, denn man wird ihm wohl nie ein ausreichendes Adsorptionsvermögen erteilen können. So bleiben denn in diesem Falle nur die beiden anderen, schon in der Einleitung erwähnten Methoden übrig, das Gift unschädlich zu machen — man kann es in eine ungiftige Verbindung überführen — oder als unlöslichen Stoff ausfallen lassen. Daß wir trotz des Scheiterns der Hauptaufgabe unsere Versuche veröffentlicht haben, möge damit entschuldigt werden, daß sie vom chemischen Standpunkte vielleicht nicht ganz ohne Interesse sind. Sie zeigen immerhin, daß es möglich ist, vom kolloid-chemischen Standpunkte aus auch in etwas verwickelteres biochemisches Geschehen einzudringen.

Zur Richtigstellung!

Von

S. Kostytschew.

(Eingegangen am 5. Juni 1910.)

In einer kürzlich erschienenen Mitteilung kommt L. Iwanoff[1]) zu dem Schlusse, daß die durch vergorene Zuckerlösungen bewirkte Zunahme der CO_2-Produktion, die ich[2]) an Weizenkeimen wahrgenommen habe, nicht auf die Oxydation der Gärungsprodukte, sondern auf die Steigerung der Alkoholgärung der Keime zurückzuführen ist. Hier liegt eine nicht ganz richtige Wiedergabe meiner Versuchsergebnisse vor: ich habe gefunden, daß die durch vergorene Lösungen auf 79 bis 142% gesteigerte CO_2-Produktion der Keime ohne Alkoholbildung stattfindet; es ist also nicht eine Steigerung der Alkoholgärung. In den Versuchen von Iwanoff waren die meistens abgetöteten Keime in Wasser versenkt, wodurch der Luftzutritt eingeschränkt und Alkoholgärung eingeleitet wurde[3]); meine Versuche waren aber bei ungehinderter Aeration und ausschließlich mit lebenden Keimen ausgeführt. Neuerdings habe ich eine fermentative Oxydation der Gärungsprodukte erzielt, und eine Mitteilung darüber ist bereits zum Druck gegangen.

---

[1]) L. Iwanoff, diese Zeitschr. 25, 179, 1910.

[2]) S. Kostytschew, diese Zeitschr. 15, 164, 1908 und 23, 137, 1909.

[3]) Gleichzeitig erfolgte auch die Sauerstoffatmung; infolgedessen erscheint die vom Verfasser in vielen Versuchen angewendete Methode der CO_2-Bestimmung durch Druckmessung als bedenklich: bei der Sauerstoffatmung bleibt $\frac{CO_2}{O_2}$ niemals längere Zeit hindurch unverändert; dieser Umstand kann allein bedeutende Schwankungen des Manometerstandes hervorrufen.

Abbauversuche in der Kohlenhydratreihe.

Von

Carl Neuberg und Else Hirschberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Vier Methoden sind bisher bekannt, welche den schrittweisen Abbau von Kohlenhydraten gestatten. Das älteste Verfahren ist das von A. Wohl, das in einer Acetylierung der Aldosoxime, deren Überführung in die Nitrile und in der Abspaltung von Blausäure nebst Essigsäure aus diesen besteht.

Die zweite Methode stammt von O. Ruff und beruht auf der Oxydation der Kohlenhydratmonocarbonsäuren mit Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von Ferrisubacetat. Ein drittes Verfahren hat C. Neuberg angegeben, das ebenfalls über die Kohlenhydratmonocarbonsäuren führt und aus diesen eine Abspaltung der Elemente der Ameisensäure mittels Elektrolyse bewirkt; schließlich hat M. Guerbet[1]) mitgeteilt, daß man von dem Mercurisalz der d-Gluconsäure durch einfaches Erwärmen zu dem nächst niedrigeren Aldehydzucker (d-Arabinose) gelangen könne, indem durch das Quecksilbersalz eine intramolekulare Oxydation in dem Sinne:

$$\begin{aligned} &2\,(CH_2OH-[CHOH]_3-CHOH-COO)_2Hg = \\ &2\,CH_2OH-[CHOH]_3-CHOH-COOHg + \\ &\quad CH_2OH-[CHOH]_3-CHOH-COOH + CO_2 + \\ &\quad CH_2OH-[CHOH]_3-CHO \end{aligned}$$

erfolgt.

Abgesehen von dem Guerbetschen Verfahren, das bisher nur in einem vereinzelten[2]) Beispiele in der Zuckerreihe Anwendung gefunden hat, sind die drei übrigen Methoden in zahlreichen

[1]) Journ. de Pharm. et Chim. 6, 27, 273, 1908.

[2]) Anm. bei der Korrektur. Die Guerbetsche Methode ist jüngst von B. Tollens und K. H. Böddener (Zeitschr. d. Ver. d. deutsch. Zuckerindustrie 60, 727, 1910) in der 5-Kohlenstoffreihe geprüft; Tollens und Böddener fanden sie hier ganz unbrauchbar und zeigten, daß die Umsetzung des Mercurisalzes teilweise überhaupt anders verläuft.

Fällen benutzt und haben teils zur Darstellung anderer Zuckerarten, teils zur Gewinnung bekannter auf neuem Wege geführt.

Nur ein einfacher Zucker ist bisher auf keine Weise zugänglich gewesen, die optisch-aktive Form des Glycerinaldehyds, die wegen ihrer Stellung im System der Kohlenhydrate sowohl wie als einfachster mit Drehungsvermögen ausgestatteter Zucker ein besonderes Interesse beansprucht. Für die Darstellung des racemischen Glycerinaldehyds ist eine spezielle Bildungsweise[1]) aufgefunden, seine Spaltung in die aktiven Komponenten jedoch bisher noch nicht ausgeführt worden. Die Gewinnung von optisch-aktivem Glycerinaldehyd nach einem der Abbauverfahren würde zugleich die Konfiguration dieses Zuckers klarlegen.

Es stellen sich aber der praktischen Durchführung der Abbaumethoden bisher unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen, die in zwei Punkten begründet sind: einmal in der Ausbeutenfrage, zweitens in der Empfindlichkeit der niederen Zuckerarten. Hierzu gesellt sich, wie jetzt gefunden ist, noch ein dritter Umstand: die Tatsache, daß wenigstens der elektrolytische Abbau und die Oxydation mit Eisensalz und Hydroperoxyd in den niederen Reihen zum Teil einen anderen Verlauf nehmen, so daß die Produkte des typischen Abbaus in den Hintergrund treten und an ihrer statt andere Verbindungen gebildet werden. Im besonderen Falle des optisch-aktiven Glycerinaldehyds ist die Ausbeute bei der Umwandlung von l-Erythronsäure in den Dreikohlenstoffzucker so gering, daß eine befriedigende Lösung des Problems bisher nicht gelungen ist.[2])

Als Ausgangsmaterial kann in praxi nur die natürlich vorkommende l-Arabinose dienen. Die Überführung derselben in die l-Arabonsäure gelingt nie ganz quantitativ, so daß bei dem hohen Preise dieser Pentose (Xylose ist noch teurer) von 900 M. pro Kilogramm das Arbeiten mit größeren Mengen sehr erschwert wird.

Die erste Aufgabe für den vorliegenden Zweck und alle anderen Arbeiten in dieser Richtung war eine wohlfeile Darstellungsmethode der l-Arabonsäure. Diese ließ sich nun in höchst einfacher Weise auf die Beobachtung gründen, daß man

[1]) A. Wohl, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 1796 u. 2394, 1898. — A. Wohl und C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **33**, 3095, 1900.

[2]) Vgl. O. Ruff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 1365, 1901. — Diss. von H. Kohn, Berlin 1902, S. 13.

von hydrolysiertem Kirschgummi ohne vorangegangene Isolierung von krystallisierter l-Arabinose direkt durch Oxydation zu l-Arabonsäure gelangen kann, die als Kalksalz isoliert wird und auf diesem Wege nunmehr in beliebigen Quantitäten zugänglich geworden ist. Die Ausbeute beträgt dabei ohne weiteres mindestens 700 g reinsten, mehrfach umkrystallisierten Kalksalzes aus 10 kg der geringsten Qualität käuflichen Kirschgummis; eine Verbesserung der Ausbeute ist bei der Billigkeit des Ausgangsmaterials nicht versucht worden.

Nach diesem neuen Verfahren ist der l-arabonsaure Kalk kilogrammweise dargestellt worden. Seine Umwandlung in l-Erythronsäure wurde nach der wohlausgearbeiteten Vorschrift von O. Ruff und A. Meusser[1]) vorgenommen, deren Ausbeuten angenähert erreicht wurden. Der Abbau der l-Erythronsäure selbst zum l-Glycerinaldehyd wurde auf zwei Weisen, zuerst durch Elektrolyse, dann durch Hydroperoxyd und Eisensalz, versucht. Für den elektrolytischen Abbau wurde das Brucinsalz durch Barytwasser in bekannter Weise in das Bariumsalz und dieses durch genaue Umsetzung in das Kupfersalz verwandelt. Die Elektrolyse einer 8%igen Lösung von l-erythronsaurem Kupfer ergab, analog den Erfahrungen mit inaktiver Säure,[2]) eine Flüssigkeit, die Fehlingsche Lösung intensiv schon in der Kälte reduzierte, mit essigsaurem Phenylhydrazin auch Glycerosazon lieferte; in der Hauptsache waren aber saure Produkte entstanden, darunter eine Carbonylsäure, wahrscheinlich von der Struktur

$$COOH — CO — CHOH — CHOH — CH_2OH.$$

Eine Trennung des Glycerinaldehyds von diesen Produkten ist trotz vieler darauf gerichteter Versuche in befriedigender Weise nicht erreicht worden.

Ein erfolgreicher Abbau nach der Ruffschen Methode ist, abgesehen von den minimalen Ausbeuten, aus denselben Gründen nicht möglich gewesen. Auch hier ist der Übergang in Glycerinaldehyd von einer Bildung saurer Produkte begleitet. Es ist zwar schließlich gelungen, eine kleine Menge Glycerinaldehyd zu erhalten, die alle charakteristischen Reaktionen

[1]) O. Ruff u. A. Meusser, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 1368, 1901.
[2]) C. Neuberg, S. Lachmann und L. Scott, diese Zeitschr. 24, 152, 1910.

des Dreikohlenstoffzuckers gab. Allein der Glycerinaldehyd ist nicht in krystallisierter Form gewonnen worden, und namentlich fehlte ihm die hauptsächlich interessierende Eigenschaft, das Drehungsvermögen. Die Darstellung von optisch-aktivem Glycerinaldehyd nach den genannten beiden Abbaumethoden gelingt also nicht in ausreichender Weise. Man wird andere Wege[1]) einschlagen müssen, um zu diesem Körper zu gelangen.

Im Verlaufe der Untersuchung wurden einige neue Substanzen beobachtet, die anscheinend zu der Klasse der wenig bekannten Polyoxy-carbonylsäuren zählen. Es sind dies die Oxy-arabonsäure und die Oxy-erythronsäure. Diese beiden Säuren entstehen sowohl bei der Elektrolyse als bei der Wasserstoffsuperoxydoxydation der l-Arabonsäure bzw. der l-Erythronsäure.

Diese Carbonylsäuren sind charakterisiert durch ihre Fähigkeit, unlösliche basische Salze mit Bleiessig und Barytwasser zu liefern, ferner durch ihr Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche und ammoniakalische Silberlösung, durch den positiven Ausfall der Naphthoresorcinreaktion;[2]) als krystallisiertes Derivat wurde das l-oxyarabonsaure Brucin dargestellt.

Mit der reichlichen Bildung dieser Säuren, die wohl als Ketoverbindungen (s. oben) aufzufassen sind, hängen die schlechten Ausbeuten bei den Abbauverfahren zusammen; denn der zu Carbonylsäure gewordene Anteil erfährt allem Anscheine nach keine Kohlenstoffkettenverkürzung, sondern bleibt unverändert oder geht in andere Produkte, aber nicht in den nächst niedrigen Zucker über.

Experimenteller Teil.

a) Ergiebige und billige Darstellung von l-Arabonsäure.

5 kg billigstes Kirschgummi wurden 18 Stunden mit 800 g konz. Schwefelsäure und 60 l Wasser gekocht und noch warm mit Bariumcarbonat neutralisiert. Die Bariumsalze wurden abfiltriert, und die klare Lösung ohne jegliches Eindampfen auf l-Arabonsäure verarbeitet. Zu diesem Zwecke wurde die

[1]) Z. B. die Zerlegung der Racemform mit asymmetrischen Hydrazinen; vgl. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36, 1192, 1903, und Neuberg und Federer, ebendas. 38, 868, 1905.

[2]) B. Tollens, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1788, 1908. Vgl. C. Neuberg, diese Zeitschr. 24, 125, 1910.

Lösung zunächst polarisiert; wie eine titrimetrische Kontrolle ergeben hat, kann das Drehungsvermögen ohne wesentlichen Fehler auf l-Arabinose bezogen werden. Der Gehalt ergab sich zu 7,6% Pentose.

Die l-Arabinoselösung wurde auf verschiedene 10-l-Stöpselflaschen verteilt, mit der berechneten Menge Brom (160 g Brom auf 150 g Arabinose) versetzt und unter häufigem Umschütteln mindestens 24 Stunden stehen gelassen. Durch Erwärmen auf dem Wasserbade wurde das überschüssige Brom entfernt und die Hauptmenge der entstandenen Bromwasserstoffsäure durch aufgeschlemmtes Bleicarbonat gefällt. Um die übliche lästige Behandlung solch großer Flüssigkeitsmengen mit Schwefelwasserstoff zu umgehen, wurde das in Lösung befindliche Blei mit Schwefelsäure genau ausgefällt, und das Filtrat dann in emaillierten Blechgefäßen oder Steingutschalen mit reinem Calciumcarbonat bis zur Neutralisation in der Wärme versetzt. Nach Filtration vom Calciumcarbonatüberschuß wurde die Flüssigkeit zweckmäßig im Vakuum auf ein kleines Volumen gebracht. Dieser Rückstand erstarrt nach einigen Tagen von selbst; schneller, in einigen Stunden, erfolgt die Krystallisation durch Einimpfung von etwas reinem l-arabonsaurem Kalk, den man sich leicht aus 0,5 g reiner l-Arabinose darstellen kann. Durch mehrfaches Umkrystallisieren des abgepreßten Rohproduktes aus heißem Wasser wurde er gereinigt; die Ausbeute betrug ohne weiteres 350 g. Aus der Mutterlauge krystallisierten nach längerem Stehen noch weitere nicht unerhebliche Mengen l-arabonsauren Kalkes freiwillig aus, so daß auf diesem Wege die l-Arabonsäure eine leicht zugängliche Substanz geworden ist.

b) Überführung von l-arabonsaurem Kalk in l-Erythrose und l-Erythronsäure.

Die Oxydation des l-arabonsauren Kalks wurde mit 340 g genau nach den Angaben von Ruff und Meusser (l. c.) ausgeführt. Die Reaktion vollzog sich unter starker Wärmeentwicklung. Nach 24 Stunden wurde von den ausgeschiedenen Eisensalzen abfiltriert und die Flüssigkeit bei 40° unter vermindertem Druck bis zur sirupösen Konsistenz eingeengt. Der Sirup wurde 5 bis 6mal mit absolutem Alkohol ausgezogen, bis eine in diesem unlösliche pulverige Masse zurück-

blieb, die in Wasser gelöst, mit $^1/_2$ der ursprünglichen Menge Wasserstoffsuperoxyd und Eisensalz oxydiert wurde. Nach entsprechender Behandlung wurde hieraus eine alkoholische Zuckerlösung und ein in Alkohol unlöslicher Rückstand erhalten, der die unten noch zu besprechende Oxyarabonsäure enthielt.

Die gesamten alkoholischen Auszüge wurden im Vakuum bis zur vollständigen Entfernung des Alkoholgeruches eingedampft. Eine abgemessene Probe der zurückbleibenden, gelbgefärbten filtrierten Flüssigkeit wurde zur Feststellung des Zuckergehaltes mit Fehlingscher Lösung titriert. Die Ausbeute an Roherythrose erreichte ungefähr die von Ruff und Meußer angegebene Menge.

Die l-Erythrose wurde darauf mit der berechneten Menge Brom unter häufigem Umschütteln in einer Stöpselflasche oxydiert. Nach 48stündigem Stehen war die Reaktion beendigt. Das überschüssige Brom wurde durch Erwärmen auf dem Wasserbade ausgetrieben, die entstandene Bromwasserstoffsäure mit selbstbereitetem alkalifreien Bleicarbonat ausgefällt, das Blei an Schwefelwasserstoff gebunden, das Filtrat eingeengt und samt den Waschwässern zur vollständigen Entfernung des Broms mit Silberoxyd geschüttelt. Nach Ausfällung der gelösten Metalle mit Schwefelwasserstoff wurde abfiltriert, die Lösung auf dem Wasserbade konzentriert und dann in der Wärme in bekannter Weise mit Brucin neutralisiert. Nach einigem Stehen krystallisierte das l-erythronsaure Brucin aus.

Aus dem mehrfach umkrystallisierten Brucinsalze wurde in folgender Weise das l-erythronsaure Barium hergestellt. Zu der wässerigen Lösung des Brucinsalzes wurde alkalifreies Barytwasser im Überschuß gegeben, die Ausfällung des Brucins durch Stehen im Eisschrank vervollständigt, die filtrierte und mit Chloroform ausgeschüttelte Flüssigkeit dann mit Kohlensäure behandelt, filtriert und schließlich im Vakuum eingeengt. Die restierende Lösung wurde abermals filtriert, dann in absoluten Alkohol eingetropft und die Abscheidung des Salzes durch Zusatz von etwas Äther vervollständigt. Durch die verschiedenen Prozeduren schrumpft die Quantität so weit zusammen, daß aus 340 g l-arabonsaurem Kalk nur 10 g (!) reines l-erythronsaures Barium erhalten wurden.

Zur Analyse wurde das Bariumsalz nochmals in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt.

0,1208 g Substanz: 0,0641 g $BaSO_4$ (= 0,0377 g Ba).

0,0838 g Substanz: 0,0070 g H_2O.

$(C_4H_7O_5)_2Ba + 2H_2O$: Ber.: Ba = 30,92%, H_2O = 8,12%; gef.: Ba = 31,21%, H_2O = 8,09%.

Das l-erythronsaure Barium enthält ebenso wie das von A. Herzfeld und Börnstein[1]) sowie O. Ruff[2]) untersuchte Salz des optischen Antipoden 2 Mol. Krystallwasser.

c) Elektrolytischer Abbau von l-Erythronsäure.

17,75 g l-erythronsaures Barium wurden in 250 ccm Wasser gelöst und mit einer Lösung von 9,99 g krystallisiertem Kupfersulfat versetzt. Beim gelinden Erwärmen auf dem Wasserbade setzt sich das Bariumsulfat ab, und die filtrierte Lösung diente nach Konzentration auf 200 ccm direkt zur Elektrolyse. Dieselbe wurde in 3 Portionen in einer geräumigen Platinschale ausgeführt, die mit dem negativen Pol der Stromquelle verbunden war. Die Anode bestand aus einem in die Platinschale eintauchenden kreisförmigen Platinblech, das durch einen Stiel mit dem positiven Pol in Verbindung stand. Der Strom, der durch den Inhalt der Platinschale floß, war Gleichstrom von 220 Volt nach Abschwächung durch eine 16kerzige Glühlampe. Die Elektrolysen wurden etwa $7^1/_2$ Stunden fortgesetzt, wobei sich die Hauptmenge des Kupfers abschied. Der in Lösung befindliche Rest von Kupfer wurde mit Schwefelwasserstoff ausgefällt, und die Flüssigkeit dann im Vakuum eingeengt. Zur Entfernung der noch vorhandenen sauren Produkte wurde der Rückstand mit gefälltem Bariumcarbonat geschüttelt und nach 12stündigem Stehen abfiltriert. Die eingeengte Flüssigkeit wurde in absoluten Alkohol eingetropft, die alkoholische Lösung verdunstet und abermals mit Alkohol gefällt. Beim Verdampfen der alkoholischen Mutterlauge hinterblieb ein Sirup, der Fehlingsche Lösung schon in der Kälte reduzierte, aber nicht frei von Barium war, saure Reaktion besaß und als einziges krystallisiertes Derivat kleine Mengen gewöhnlichen Glycerosazons ergab. Die Ausbeute selbst an unreinem Produkt

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 18, 3353, 1885.

[2]) Ebenda, 32, 3672, 1899.

war so spärlich, daß von einer Darstellung des l-Glycerinaldehyds auf diesem Wege keine Rede sein kann.

Der intensive Ausfall der Naphthoresorcinprobe in der elektrolysierten Erythronsäurelösung, deren Fällbarkeit mit Barytwasser und Bleiessig lehrten, daß hier eine relativ reichliche Menge von Oxyerythronsäure entstanden war, wie das auch bei der Wasserstoffsuperoxydoxydation (siehe diese) der Fall ist.

d) Abbau von l-Erythronsäure mit Hydroperoxyd und Ferrisubacetat.

Die verschiedenen Oxydationsversuche wurden stets in folgender Art ausgeführt. Das l-erythronsaure Barium[1]) wurde in der 5fachen Menge Wasser gelöst und unter Zugabe von $^1/_5$ Volumen basischer Eisenacetatlösung mit so viel Hydroperoxydlösung versetzt, daß auf 1 Mol. der im Bariumsalz enthaltenen Säure 1,5 Atome Sauerstoff kamen. Unter gelinder Wärmeentwicklung vollzog sich die Einwirkung und war bei gewöhnlicher Temperatur nach Ablauf von 12 Stunden beendigt (Verschwinden der Wasserstoffsuperoxydreaktionen). Die Lösung wurde von den ausgefallenen Salzen abfiltriert und im Vakuum bis zum Sirup konzentriert; die übergehende Flüssigkeit enthielt kleine, aber deutlich nachweisbare Mengen von Formaldehyd. Der sirupöse Rückstand wurde wiederholt mit absolutem Alkohol ausgeknetet, bis eine in diesem unlösliche, pulvrige Masse zurückblieb. Diese wurde wieder in Wasser gelöst, mit der Hälfte der zuvor angewendeten Menge Hydroperoxyd und Eisensalz oxydiert und entsprechend weiterbehandelt. (In dem in Alkohol unlöslichen Rückstande befand sich u. a. die Oxyerythronsäure.) Nach vorsichtigem Verdunsten des Alkoholauszuges, Aufnahme des Rückstandes in absolutem Alkohol und mehrfacher Wiederholung der Extraktion mit Alkohol enthielten die Alkoholauszüge noch immer Bariumsalze, deren Entfernung nur unter Verlusten an reduzierender Substanz durch Ausfällen mit Äther gelang.

Die alkoholisch-ätherische Zuckerlösung wurde im Vakuum konzentriert und die zurückbleibende Flüssigkeit über Schwefelsäure und Phosphorpentoxyd im Vakuumexsiccator bei Zimmer-

[1]) Über die Darstellung desselben siehe S. 332.

temperatur getrocknet. Dieses geschah in gewogener Schale bis zur Gewichtskonstanz. Es blieb dann ein hellgelber, schwach bitter schmeckender Sirup zurück. Die Ausbeute betrug bei einem Versuch, zu dem 340 g l-arabonsaures Calcium in Arbeit genommen waren, 0,468 g. Diese wurden genau in 10 ccm Wasser gelöst und zur Polarisation verwendet. Die Ablenkung im 2-dcm-Rohr war jedoch so gering, daß ein sicheres Drehungsvermögen nicht zu erkennen war.

Als Glycerinaldehyd wurde die Substanz durch folgende Reaktionen charakterisiert:

Sie reduzierte bereits intensiv in der Kälte Fehlingsche Lösung.

Die Orcinprobe fiel positiv aus (Streifen im Rot).

Bei der Behandlung mit Phloroglucin und Salzsäure entstand zunächst eine weiße flockige Fällung, die dann in ein schmutziges Braun überging. Der Amylalkoholauszug zeigte jetzt nur eine Allgemeinabsorption vom Grün an.

Diese Reaktionen stimmen also mit denen überein, die für die Racemform des Glycerinaldehyds bekannt sind. Ferner wurde festgestellt, daß sich mit Methylphenylhydrazin und Diphenylhydrazin in alkoholischer Lösung Hydrazone darstellen lassen, doch reichte ihre Menge zur Untersuchung nicht aus. — Die nach dem Ausziehen mit Alkohol hinterbleibenden Salze schließen eine Carbonylsäure ein; ihr Auftreten im Verein mit der Bildung von Formaldehyd und der geringen Ausbeute an Dreikohlenstoffzucker zeigen, daß auch die Reaktion zwischen l-Erythronsäure und Wasserstoffsuperoxyd einen recht komplexen Charakter trägt.

e) l-Oxyarabonsäure.

Der pulvrige Rückstand, der nach der Extraktion der l-Erythrose mit Alkohol zurückbleibt, wurde in Wasser gelöst und filtriert. Die erhaltene hellgelbe Flüssigkeit wurde mit Bleiessig genau ausgefällt. Der gut ausgewaschene Bleiniederschlag wurde in Wasser suspendiert und das Blei mit Schwefelwasserstoff ausgefällt. Nach der Filtration vom Schwefelblei und nach Entfernung des überschüssigen Schwefelwasserstoffes durch Abdampfen auf dem Wasserbade wurde die Flüssigkeit unter Erwärmen mit Brucin neutralisiert, das überschüssige

Brucin der Lösung durch Chloroform entzogen, filtriert und das Filtrat auf ein kleines Volumen gebracht. Nach einigem Stehen krystallisierte der Rückstand; er wurde durch Absaugen auf einer Nutsche von dem anhaftenden Sirup befreit und mit wenig kaltem Wasser ausgewaschen. Das erhaltene Brucinsalz wurde zweimal aus heißem Wasser auskrystallisiert. Die Analyse ergab folgende Werte:

0,1062 g Substanz: 0,2260 g CO_2, 0,0631 g H_2O,
0,1210 g Substanz: 5,2 ccm N (21°, 762 mm):
$(C_5H_8O_6)C_{23}H_{26}N_2O_4 + H_2O$:
Ber.: C 58,43, H 6,08, N 4,87, H_2O 3,13;
gef.: C 57,77, H 6,46, N 4,88, H_2O 3,49.

Nimmt man die Zersetzung des basischen Bleisalzes der Oxyarabonsäure durch Schwefelwasserstoff bei Gegenwart von Carbonaten der Erdalkalien vor, so enthält die vom Schwefelblei und überschüssigem Erdalkalicarbonat abfiltrierte Lösung das entsprechende wasserlösliche normale Salz. Durch Konzentration der Flüssigkeit im Vakuum und Fällung mit Alkohol kann man auf diese Weise das Barium- und Calciumsalz in fester Form als lockere, schwach gelbstichige Pulver gewinnen; allein dieselben sind bei dieser Art der Darstellung (ohne den Umweg über die krystallisierte Brucinverbindung) nicht ganz rein, offenbar zum Teil verunreinigt durch kleine Mengen andersartiger Oxydationsprodukte.

So ergab ein in dieser Weise hergestelltes Calciumsalz die folgenden Zahlen:

Analyse:

0,1501 g Substanz: 0,1440 g CO_2, 0,0628 g H_2O,
$Ca(C_5H_7O_6)_2 + 2H_2O$:

Ber.:	C 29,85,	H 4,47,	Ca 9,95,	H_2O 8,95;
gef.:	C 26,18,	H 4,68,	Ca 9,94,	H_2O 9,26.

Die Verunreinigung des Kalksalzes, die sich in den Werten für Kohlenstoff offenbart, besteht zum Teil auch aus Eisen, das dem ursprünglich zugesetzten Ferrisubacetat entstammt und nur schwer zu entfernen ist; denn es wandert zunächst mit in die Bleiessigfällung hinein, wird bei deren Zerlegung durch Schwefelwasserstoff wieder frei und geht trotz der Behandlung mit Calciumcarbonat in Lösung, da die Gegenwart von Poly-

hydroxylkörpern (Oxyarabonsäure) die Entstehung von Doppelsalzen oder Komplexverbindungen begünstigt.

Gleich allen bekannten Carbonylsäuren der Kohlenhydratreihe ist die l-Oxyarabonsäure überaus empfindlich; dieses äußert sich auch darin, daß die löslichen Salze beim Aufbewahren zum Teil unlöslich werden, d. h. auch in heißem Wasser unlösliche, dunkelgefärbte Abscheidungen hinterlassen, die zum Teil direkt huminähnlich aussehen. Wegen dieser Zersetzlichkeit ist bisher eine Darstellung der freien Säure in krystallisiertem Zustande nicht geglückt. Die Lösung zeigte folgende Reaktionen:

Fehlingsche Mischung wird bereits in der Kälte deutlich reduziert; sehr stark in der Hitze.

Beim Erwärmen mit ammoniakalisch-alkalischer Silberlösung erfolgt starke Schwärzung, zum Teil unter Spiegelbildung.

Mit überschüssigem Barytwasser entsteht ein feinflockiger gelber Niederschlag, der sich beim gelinden Erwärmen zusammenballt und Orangefärbung annimmt; er besteht aus einem basischen Bariumsalz, das auch auf Zusatz von Bariumchlorid und Ammoniak ausfällt.

Mit einer Lösung von normalem Bleiacetat tritt nur eine Trübung ein, dagegen erfolgt mit Bleiessig eine Fällung; diese löst sich z. T. in einem Überschuß von Bleiessig, und Ammoniak fällt daraus wieder eine basische Bleiverbindung.

Mit Naphthoresorcin und Salzsäure gibt die Oxyarabonsäure gleich allen darauf untersuchten Oxycarbonylsäuren ein Kondensationsprodukt, das sich in Äther mit tiefblau-violetter Farbe löst. Die spektroskopische Untersuchung zeigte — wie bei d-Glucuronsäure — ein starkes Band in Gelbgrün.

Mit Orcin und Salzsäure entsteht bemerkenswerterweise ein Farbstoff, der in Amylalkohol mit smaragdgrüner Nuance übergeht und einen Absorptionsstreifen im Rot zeigt.

Bei Anstellung der Phloroglucinprobe tritt lediglich eine Braunfärbung ein; der amylalkoholische Auszug ist mißfarben und weist kein charakteristisches Absorptionsband, sondern nur eine allgemeine Verdunkelung vom Grünblau ab auf.

Die Oxyarabonsäure, $C_5H_8O_6$, zeigt in ihrem Verhalten manche Ähnlichkeit einerseits mit der d-Glucuronsäure, $C_6H_{10}O_7$,

anderseits mit der d, l-Oxyerythronsäure[1]), $C_4H_8O_5$, zwischen denen sie in der Mitte steht.

f) l-Oxyerythronsäure.

In ganz analoger Weise entsteht bei der Oxydation der l-Erythronsäure mit Hydroperoxyd und Eisensalz eine Oxyerythronsäure, welche in dem in Alkohol unlöslichen Rückstande vorhanden ist. Die Säure gibt fast die gleichen Reaktionen wie die homologe l-Oxyarabonsäure, insbesondere eine sehr intensive Naphthoresorcinprobe.

---

[1]) C. Neuberg und L. Scott, diese Zeitschr. 24, 166, 1910.

Über die α-Naphthylisocyanatverbindungen einiger physiologisch wichtigen Substanzen.

Von

Carl Neuberg und Else Hirschberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Das α-Naphthylisocyanat hat sich in vielen Fällen als ein recht brauchbares Reagens zur Abscheidung amidierter und hydroxylierter Substanzen erwiesen. Die durch ihre Schwerlöslichkeit ausgezeichneten Verbindungen mit Aminosäuren,[1]) die α-Naphthylhydantoinsäuren, können durch Schütteln der Komponenten bei Gegenwart von Alkali in wässeriger Lösung gewonnen werden. Die Verbindungen mit Alkoholen[2]) bzw. mit Phenolen, die α-Naphthylurethane, müssen dagegen unter Ausschluß von Wasser dargestellt werden.

Schwer lösliche Verbindungen von Alkoholen, Phenolen u. dgl. besitzen bei der weiten Verbreitung dieser Substanzen in der Natur ein analytisches Interesse. Die Kuppelung mit α-Naphthylisocyanat bietet den Vorzug, daß dieser Körper durch sein großes Molekulargewicht die Menge der auszuscheidenden Substanz vergrößert; hinzu kommt bei den α-Naphthylisocyanatverbindungen ein vielfach gutes Krystallisationsvermögen und voluminöse Form, Eigenschaften, welche die Abscheidung selbst kleiner Mengen gestatten.

Das α-Naphthylisocyanat tritt mit Alkoholen und Phenolen in der Weise in Reaktion, daß durch einfache Addition α-Naphthylurethane gebildet werden:

$$C_{10}H_7.N.CO + HO.R = C_{10}H_7.NH.COO.R.$$

Bei Polyhydroxylkörpern vollzieht sich ein mehrmaliger Eintritt von α-Naphthylisocyanat unter Bildung von Polyurethanen.

---

[1]) C. Neuberg und A. Manasse, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 2359, 1905 und C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 5, 456, 1907.

[2]) C. Neuberg und E. Kansky, diese Zeitschr. 20, 445, 1909.

Die Vereinigung der Komponenten geht bei mehr oder minder starkem Erwärmen vor sich, am einfachsten bei Ausschluß eines Lösungs- bzw. Verdünnungsmittels. Wegen der zersetzenden Wirkung des Wassers auf α-Naphthylisocyanat selbst, namentlich in der Wärme, ist für völlige Trockenheit zu sorgen. Der hohe Siedepunkt des α-Naphthylisocyanats gestattet das Arbeiten in offenen Gefäßen, nach Bedarf mit Aufsatz eines kurzen Steigerohres.

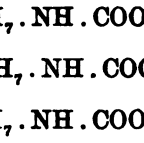
Bei den im folgenden beschriebenen Beispielen ist die Reaktionsfähigkeit eine ungleiche. Meist genügt Erwärmung bis zum beginnenden Sieden, worauf die Aneinanderlagerung sich unter Wärmeentwicklung vollzieht; dabei scheidet sich das Urethan oft direkt krystallinisch ab, manchmal fällt es nach der Abkühlung und nach kurzem Stehen in fester Form aus. Bei einigen Benzolderivaten jedoch ist eintägiges Stehen hierzu notwendig. Reiben mit einem Glasstabe wirkt in diesen Fällen förderlich. Bei empfindlichen Verbindungen darf die Erwärmung nur mit Vorsicht vorgenommen werden, da die Selbsterhitzung sonst bis zur völligen Verkohlung fortschreiten kann, z. B. beim Furfuralkohol. Wenn die Alkohole oder Phenole fest sind, so werden sie entweder vorher geschmolzen oder mit dem α-Naphthylisocyanat gelinde erwärmt, wobei sie sich lösen. Zur Reinigung werden die zunächst meist als harte Massen abgeschiedenen Urethane, am besten aus organischen Solvenzien, umkrystallisiert, wobei in der Regel etwas Dinaphthylharnstoff zurückbleibt, der einer Zersetzung des α-Naphthylisocyanats entstammt.

Zu bemerken ist noch, daß man bei der Bestimmung der Schmelzpunkte nicht zu langsam erhitzen darf, weil sonst — ähnlich wie bei Hydrazonen und Osazonen — allmählich eine Zersetzung erfolgt. Eine solche tritt in geringem Umfange allem Anscheine nach auch bei längerer Aufbewahrung der α-Naphthylurethane ein; es zeigt sich dieses an einem Herabgehen der Schmelzpunkte sowie an dem Auftreten eines Geruches nach den Spaltungsprodukten.

Im folgenden werden die α-Naphthylurethane von einigen mehrwertigen aliphatischen Hydroxylverbindungen, von Phenolen, aromatischen und cyclischen Alkoholen beschrieben werden; auch zur Isolierung von Aminoaldehyden, wie Aminoacetaldehyd und d-Glucosamin, ist das α-Naphthylisocyanat geeignet.

Experimenteller Teil.

Glycerin-tri-α-naphthylurethan.



1 g zuvor sorgfältig entwässertes Glycerin wurde mit 5,1 g α-Naphthylisocyanat einen Augenblick über freier Flamme erhitzt. Unter heftiger Reaktion vollzieht sich die Vereinigung, und nach kurzer Zeit entsteht ein harter Kuchen. Der Körper wurde aus heißem Pyridin umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Er ist schwer löslich in den meisten organischen Lösungsmitteln und bildet gut ausgebildete lange Nadeln.

Er stellt ein charakteristisches Derivat des Glycerins dar.

Das Urethan beginnt bei 264° sich gelb zu färben und schmilzt bei 279 bis 280°.

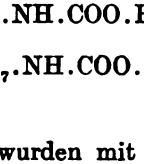
Ausbeute 3,5 g.

Analyse:

0,1858 g Substanz: 12,0 ccm N (14°, 756 mm).

$C_{36}H_{29}O_6N_3$: Ber.: 8,53%; gef.: 8,09%.

Glycerinsäure-di-α-naphthylurethan.

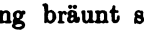


1,1 g Glycerinsäure wurden mit 3,4 g α-Naphthylisocyanat versetzt. Beim Erwärmen erfolgt homogene Mischung, und nach kurzem Stehen scheidet sich eine harte krystallinische Masse aus. Diese wurde aus heißem Chloroform umkrystallisiert, aus dem sie sich in nicht besonders gut ausgebildeten Prismen abschied. Die Verbindung bräunt sich bei 285° und schmilzt bei 289 bis 290°.

0,1770 g Substanz: 10,7 ccm N (15°, 742 mm).

$C_{25}H_{20}O_6N_2$: Ber.: 6,30%; gef.: 6,87%.

Phenyl-α-naphthylurethan.



1,10 g Phenol wurden mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat in einem vollkommen trockenen Reagensglase übergossen. Das

Phenol löst sich bei gelindem Erwärmen über der Flamme. Nach 12stündigem Stehen war das Urethan in Form von langgestreckten Spießen auskrystallisiert.

Es wurde in ziemlich viel kochendem Ligroin gelöst und von dem bei der Reaktion entstandenen Dinaphthylharnstoff abfiltriert. Das auskrystallisierte Urethan wurde im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

Schmelzp. 136 bis 137° nach vorherigem Erweichen bei 133°.

0,1100 g Substanz: 5,2 ccm N (16°, 750 mm).

$C_{17}H_{13}O_2N$: Ber.: 5,32%; gef.: 5,41%.

o-Kresol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_6H_4(CH_3)$

1,2 g o-Kresol wurden mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Die Vereinigung vollzog sich unter starker Wärmeentwicklung. Das Reaktionsprodukt fiel nach 12stündigem Stehen aus und krystallisierte aus absolutem Alkohol in gut ausgebildeten Spießen. Die Substanz schmilzt nicht ganz scharf bei 145°.

Ausbeute 1,4 g.

0,1330 g Substanz: 5,8 ccm N (18°, 747 mm).

$C_{18}H_{15}NO_2$: Ber.: 5,05%; gef.: 5,10%.

m-Kresol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_6H_4(CH_3)$

Aus 1,2 g m-Kresol und 1,7 g α-Naphthylisocyanat analog der o-Verbindung; krystallisiert aus Alkohol in spießigen Formen.

Schmelzp. 135 bis 136°.

Ausbeute 1,3 g.

0,1946 g Substanz: 9,1 ccm N (17°, 766 mm).

$C_{18}H_{15}NO_2$: Ber.: 5,05%; gef.: 5,44%.

p-Kresol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_6H_4(CH_3)$

1,2 g p-Kresol und 1,7 g α-Naphthylisocyanat werden ganz kurze Zeit erhitzt. Alsbald krystallisiert die Verbindung in tafelförmigen Blättchen aus; sie wird zweimal aus absolutem Alkohol umkrystallisiert.

Ausbeute 1,3 g.

Die Substanz erweicht bei 120°, schmilzt bei 150 bis 151°.

0,1488 g Substanz: 6,3 ccm N (15°, 754 mm).

$C_{18}H_{15}NO_2$: Ber.: 5,05%; gef.: 4,88%.

Carvacrol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_6H_2(C_3H_7)(CH_3)$

Aus 1,8 g Carvacrol und 1,7 g α-Naphthylisocyanat. Das Urethan wurde durch Filtration der heißen Acetonlösung vom Dinaphthylharnstoff getrennt; es krystallisierte in feinen, biegsamen Nadeln aus.

Schmelzp. 287 bis 288°.

Ausbeute 1,5 g.

0,1560 g Substanz: 6,4 ccm N (15°, 766 mm).

$C_{21}H_{21}NO_2$: Ber.: 4,38%; gef.: 4,82%.

Saligenin-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_6H_4.CH_2.OOC.NH.C_{10}H_7$

1,3 g Saligenin und 3,4 g α-Naphthylisocyanat. Die Reaktion vollzog sich nach kurzem Erwärmen. Das Urethan wurde aus kochendem Aceton zweimal umkrystallisiert und bestand aus zu knolligen Gebilden vereinigten Krystallen.

Die Substanz schwärzt sich bei 281° und schmilzt unter Gasentwicklung bei 283°.

Ausbeute 2,6 g.

0,1704 g Substanz: 9,6 ccm N (16°, 746 mm).

$C_{29}H_{22}N_2O_4$: Ber.: 6,06%; gef.: 6,41%.

Zimmtalkohol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.CH_2.CH:CH.C_6H_5$

Aus 1,4 g Zimmtalkohol und 1,7 g α-Naphthylisocyanat. Aus der siedenden Ligroinlösung krystallisierte die Verbindung in zu großen Haufen vereinigten prismatischen Nadeln aus.

Schmelzp. 119 bis 120°.

Ausbeute 2,8 g.

0,1350 g Substanz: 5,5 ccm N (17°, 734 mm).

$C_{20}H_{17}NO_2$: Ber.: 4,62%; gef.: 4,54%.

Menthol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_{10}H_{19}$

1,7 g gew. Menthol wurden mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat gelinde erwärmt. Das in kurzer Zeit in fester Form ausfallende Urethan wurde aus heißem Ligroin umkrystallisiert und zeigte lange, spießförmige Krystalle.

Die Substanz sintert bei 124° und schmilzt bei 128°.

Ausbeute 2 g.

0,1644 g Substanz: 0,4750 g CO_2, 0,1294 g H_2O.

0,1366 g Substanz: 5,1 ccm N (bei 17° 742 mm).

$C_{21}H_{27}NO_2$: Ber.: C 7,75, H 8,30, N 4,30;
gef.: C 7,88, H 8,80, N 5,40.

l-Borneol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_{10}H_{17}$

Aus 1,6 g l-Borneol und 1,7 g α-Naphthylisocyanat. Krystallisiert aus siedendem Ligroin in schön ausgebildeten Prismen aus.

Schmelzp. 132°.

Ausbeute 2 g.

0,2218 g Substanz: 9,3 ccm N (14°, 758 mm).

$C_{21}H_{25}NO_2$: Ber.: 4,33%; gef.: 4,89%.

Iso-borneol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_{10}H_{17}$

Entsteht fast momentan aus 1,6 g Isoborneol und 1,7 g α-Naphthylisocyanat. Das Urethan wurde aus Alkohol umkrystallisiert und bildete langgestreckte, schön ausgebildete Prismen.

Schmelzp. 129°.

Die Ausbeute betrug 2,7 g.

0,1520 g Substanz: 6,0 ccm N (20°, 748 mm).

$C_{21}H_{25}NO_2$: Ber.: 4,33%; gef.: 4,42%.

α-Terpineol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_{10}H_{17}$

Aus 1,6 g α-Terpineol (von Schimmel & Co., F. 35°) und 1,7 g α-Naphthylisocyanat. Nach kurzem Erwärmen erstarrt die Masse. Das Urethan wird aus heißem Aceton umkrystallisiert und bildet

feine Nädelchen. Die Substanz erweicht bei 148° und schmilzt bei 151 bis 152°, doch darf nicht zu langsam erhitzt werden.

Ausbeute 1,5 g.

0,1040 g Substanz: 4,0 ccm N (14°, 740 mm).

$C_{21}H_{26}NO_2$: Ber.: 4,33%; gef.: 4,52%.

Cyclohexanol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_6H_{11}$

1,0 g Cyclohexanol wurde mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat gelinde erwärmt, worauf in kurzem die ganze Masse erstarrte. Das Reaktionsprodukt wurde wiederholt aus heißem absolutem Alkohol umkrystallisiert, woraus es in großen, gut ausgebildeten prismatischen Nadeln ausfällt. Die Substanz sintert bei 135°, schmilzt bei 139 bis 140°.

Ausbeute 2,3 g.

0,1294 g Substanz: 5,3 ccm N (14°, 768 mm).

$C_{17}H_{19}NO_2$: Ber.: 5,20%; gef.: 5,19%.

Das Urethan ist ein besonders schönes Derivat des Cyclohexanols.

Furfuralkohol-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.CH_2.C_4H_3O$

1,0 g Furfuralkohol wurde mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat versetzt und einen Augenblick auf freier Flamme angewärmt.[1])

Nach kurzer Zeit erfolgt Krystallisation durch die ganze Masse. Die Verbindung wird aus Alkohol umkrystallisiert, aus dem sie in prismatische Nadeln ausfällt. Die Substanz sintert bei 130° und schmilzt bei mäßig schnellem Erhitzen bei 133°.

Ausbeute 2 g.

0,1366 g Substanz: 6,4 ccm N (15°, 754 mm).

$C_{16}H_{13}NO_2$: Ber.: 5,24; gef.: 5,41.

Cholesterin-α-naphthylurethan.

$C_{10}H_7.NH.COO.C_{26}H_{43}$

3,9 g Cholesterin wurden mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat übergossen und kurze Zeit auf freier Flamme erhitzt. Zunächst erfolgt klare Lösung; dann erstarrt die Masse zu einem harten Firnis. Nimmt man diesen in Äther auf und filtriert ihn von einigen Verunreinigungen ab, so krystallisiert aus der konzen-

[1]) Bei stärkerem Erhitzen tritt totale Verkohlung ein.

trierten Ätherlösung das Urethan in gut ausgebildeten, tafelförmigen Gebilden aus. Die Verbindung gibt die Cholesterinreaktionen von E. Salkowski und Liebermann nach kurzem Stehen.

Schmelzp. 175 bis 176°, vorheriges Erweichen bei 172°.

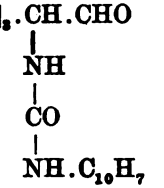
Ausbeute 3,8 g.

0,1733 g Substanz: 4,2 ccm N (14°, 764 mm).

0,1626 g Substanz: 0,4880 g CO_2, 0,1409 g H_2O.

$C_{27}H_{31}NO_9$: Ber.: C 82,19, H 9,42, N 2,58;
gef.: C 81,85, H 9,69, N 2,85.

d-Glucosamin-α-naphthylurethan.



2,25 g salzsaures d-Glucosamin wurden in 40 ccm Wasser gelöst mit 10 ccm Normal-Natronlauge und mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat unter starkem Schütteln versetzt. Nach einiger Zeit entstand eine voluminöse Masse, die auf einer Nutsche abgesaugt und mit kaltem Wasser ausgewaschen wurde. Das Urethan wurde mehrmals aus heißem Alkohol umkrystallisiert und schied sich in zu Drusen vereinigten Prismen aus. In alkoholischer Lösung reduziert die Verbindung Fehlingsche Mischung direkt; sie enthält demnach noch die freie Aldehydgruppe. Die Substanz entspricht dem von H. Steudel[1]) erhaltenen Anlagerungsprodukte von Phenylcyanat an Glucosamin.

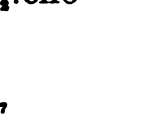
Schmelzp. 234 bis 236°.

Ausbeute 2,5 g.

0,1044 g Substanz: 7,2 ccm (21°, 762 mm).

$C_{17}H_{21}N_2O_6$: Ber.: 8,04; gef.: 7,83.

Aminoacetaldehyd-α-naphthylurethan.



[1]) H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 223, 1901; 34, 371, 1902.

Aus Aminoacetal wurde durch kalte konzentrierte Salzsäure Aminoaldehydchlorhydrat nach den Angaben von E. Fischer[1]) dargestellt.

0,9 g sirupöser salzsaurer Aminoacetaldehyd wurde unter Kühlung mit 10 ccm n-Natronlauge und 1,7 g α-Naphthylisocyanat behandelt. Das entstandene Aminoacetaldehyd-α-naphthylurethan wurde abfiltriert und aus Pyridin umkrystallisiert; es fiel in Form von amorphen Körnchen aus.

Die Aminoacetaldehyd-naphthylisocyanatverbindung gibt beim Erwärmen mit starker Salzsäure, in der sie sich löst, Reduktion von Fehlingscher Mischung.

0,1020 g Substanz: 10,2 ccm N [bei 14° 765 mm].

$C_{13}H_{12}N_2O_2$: Ber.: 12,28; gef.: 11,77.

[1]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 92, 1893.

Notiz zur Kreatininbestimmung.

Von

P. Rona.

(Eingegangen am 6. August 1910.)

Da die Bestimmung des Kreatinins jetzt fast ausnahmslos nach der genauen und bequemen colorimetrischen Methode von Folin geschieht, so ist es wünschenswert, diese an möglichst farblosen Organflüssigkeiten ausführen zu können. Es ist vielleicht nicht überflüssig, darauf hinzuweisen, daß bei der von Michaelis und mir eingeführten Enteiweißung mit kolloidalem Eisenhydroxyd in dem eiweißfreien, vollkommen wasserklaren neutralen Filtrat das Kreatinin sich quantitativ wiederfindet, da das Kreatinin vom Eisenhydroxyd nicht adsorbiert wird. Versuche an Blut, bei denen Herr Dr. Braunstein aus Moskau sich beteiligt hat, ergaben die gute Brauchbarkeit der „Eisenmethode" für den Nachweis und die Bestimmung des Kreatinins daselbst. Auch für die Kreatininbestimmung im Fleischextrakt dürfte die vorherige Behandlung mit Eisenhydroxyd von Vorteil sein. In dieser Richtung sind Versuche im Gange. — Gleichzeitig sei es mir erlaubt, auf zwei störende Druckfehler in meiner Beschreibung der Folinschen Methode in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden hinzuweisen.

Band III, Seite 787,

Zeile 23 von oben

statt „Eine $^1/_2$ n-Kaliumbichromatlösung (25,54 g pro Liter)" lies . . . (24,54 g pro Liter).

Zeile 24 von oben

statt „Eine annähernd gesättigte ($^1/_2$%ige) Pikrinsäurelösung; lies . . . (1,2%ige Pikrinsäurelösung).

Zur Kenntnis der Amylase (Diastase).

Von

A. Wohl und E. Glimm.

(Aus dem organ.-chemischen Laboratorium der Kgl. Techn. Hochschule zu Danzig.)

(Eingegangen am 30. Juni 1910.)

Es ist lange bekannt, daß bei der enzymatischen Spaltung der Stärke in Gegenwart der Spaltungsprodukte der Vorgang sich verlangsamt und schließlich zum Stillstande kommt, ohne daß vollständige Umwandlung der Stärke zu Zucker erfolgt ist. Diese Beziehung spielt eine wichtige Rolle für den Maischprozeß bei der Alkoholgewinnung. Die zunächst unverzuckert gebliebenen Dextrine werden nämlich von der Amylase (Diastase) wieder angegriffen in dem Maße, in dem der Zucker durch die Gärung verzehrt wird, und zu diesem Zwecke muß die Wirksamkeit des Enzyms durch Einhaltung passender Temperaturen geschont und über den eigentlichen Maischprozeß hinaus erhalten werden. Daß die nachträgliche Zuckerbildung nicht durch einen besonderen Einfluß der Hefeenzyme bedingt ist, folgt daraus, daß nach Sheridan Lea[1]) auch eine Entfernung von Zucker auf anderem Wege, z. B. durch Dialyse die gleiche Wiederbelebung der diastatischen Wirkung herbeiführt.[2])

Eine ähnliche Wiederbelebung übt auch eine starke Verdünnung der Lösung aus. Unzweifelhaft ist danach die Annahme am einfachsten, daß die Hemmung von den bei der

[1]) Proc. of the Royal Soc. 47, 192, 1890.

[2]) Schon weit früher hatte in einem anderen Falle Kühne (Lehrbuch, 1866, S. 39) eine Wiederbelebung enzymatischer Wirkung durch Dialyse beobachtet; er fand, daß eine mit überschüssigem Fibrin bis zur Sättigung digerierte Verdauungsflüssigkeit, filtriert und vom Pepton durch Dialyse befreit, dieselbe Menge Fibrin von neuem zu lösen vermag.

Hydrolyse entstehenden Spaltungsprodukten, im vorliegenden Falle also von der Maltose, ausgeht und mit ihrer Konzentration steigt. Aber unmittelbar beweisend sind die angeführten Versuche dafür nicht. Man weiß ja, wie geringe Mengen eines Fremdstoffes die Enzymtätigkeit lähmen können, und so liegt in allen diesen Fällen auch die Möglichkeit vor, daß in Spuren auftretende Nebenprodukte hemmend wirken und daß die Dialyse oder Verdünnung die Hemmung aufhebt, weil dabei auch diese Fremdstoffe entfernt oder verdünnt werden.

In der Tat ist von einer ganzen Reihe von Autoren die Hemmung durch die Spaltungsprodukte bestritten worden. Brown und Heron[1]), dann Kjeldahl[2]) haben die hemmende Wirkung eines Maltosezusatzes auf die Stärkehydrolyse nicht feststellen können, und erstere begründen ihre Ansicht, daß dem Fortschreiten des Vorganges nicht etwa ein Überschuß von Maltose entgegenwirke, noch weiter damit, daß neu zugegebene Stärkemengen ja ohne weiteres wiederum angegriffen würden. Diese wichtige Beobachtung beweist aber tatsächlich nur, daß die Hemmung, wie sie auch zustande kommen mag, nicht dauernd, sondern durch Änderung der Versuchsbedingungen wieder aufhebbar ist.

Für das Invertin gelangten O. Sullivan und Tompson[3]) zu dem Schlusse, daß die Gegenwart der Inversionsprodukte ohne Einfluß auf den Fortgang der Zuckerspaltung sei. Andere vertreten die entgegengesetzte Ansicht, so Wortmann[4]), ohne besondere Versuche anzuführen, und Grüß[5]), der erst bei sehr großen Maltosemengen einen sichtlichen Unterschied auffinden konnte. Glycerin zeigte ihm den gleichen Einfluß auf die Angreifbarkeit der Stärke. Beide Autoren stützen sich übrigens wesentlich auch auf die allgemeine Überlegung, daß die Maltose bzw. die andern gleichwirkenden Stoffe, in höherer Konzentration angewandt, Lösungswasser binden und so dem Ferment das zu seiner hydrolytischen Tätigkeit nötige Wasser entziehen müßten.

---

[1]) Liebigs Annalen 199, 227, 240, 1879.
[2]) Dingl. Polyt. Journ. 235, 457, 1880.
[3]) Journ. of Chem. Soc. 57, 219, 1892.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 323, Anm.
[5]) Landw. Jahrb. 25, 399, 1896.

Ein neuer Gesichtspunkt ist in diese Frage hineingetragen worden dadurch, daß man, allerdings ohne besondere experimentelle Unterlagen, die Hemmung der Stärkehydrolyse in Beziehung gesetzt hat zu der Fähigkeit der Enzyme, nicht nur abbauend, sondern auch aufbauend zu wirken.

Danach erscheint die Begrenzung der diastatischen Wirkung als Ergebnis eines Gleichgewichts zwischen zwei entgegengesetzt verlaufenden Vorgängen: hydrolytischer Abbau und Reversion. Tamman[1]) hatte zwar 1892 aus einer eingehenden Untersuchung der Emulsinwirkung am Amygdalin und Salicin und einzelnen Versuchen am Invertin den Schluß gezogen, daß der Endzustand der Fermentreaktionen kein Gleichgewichtszustand sein könne. Er hat aber seine Versuche auf den komplizierteren Fall der Stärkehydrolyse nicht ausgedehnt. So ist diese Arbeit in der vorliegenden Frage unberücksichtigt geblieben. Vielmehr hat, insbesondere seit dem Nachweis der enzymatischen Reversion der Glucose durch Croft Hill[2]), die Reversionsauffassung mehr und mehr an Boden gewonnen, so daß der Gegenstand zurzeit allgemein in diesem Sinne dargestellt wird.[3])

Es erscheint danach der Vorgang der enzymatischen und der Säurespaltung der Stärke durchaus gleichartig; denn für letzteren ist von A. Wohl[4]) nachgewiesen worden, daß die scheinbare Unvollständigkeit der Spaltung auf Gleichgewicht zwischen Hydrolyse und Reversion beruht.

In der folgenden Arbeit ist die Frage, auf welche Ursache die Unvollständigkeit der enzymatischen Spaltung der Stärke zurückzuführen ist, einer experimentellen Prüfung unterworfen worden. Dies erscheint um so mehr erforderlich, als einige in neuerer Zeit bekannt gewordene Beobachtungen auf verwandten Gebieten die oben wiedergegebene zurzeit übliche Erklärung mindestens zweifelhaft erscheinen lassen. Die Arbeit ist dann

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 19, 295. Als Ursache der Hemmung nimmt er eine reversible Umwandlung des Enzyms in eine isomere Modifikation an.

[2]) Journ. of Chem. Soc. 73, 634, 1897.

[3]) Vgl. Delbrück, Handb. d. Spiritusfabrikation, 9. Aufl., 1908, S. 542. — Thausing, Malzbereitung u. Bierfabrikation, 6. Aufl., 1907, S. 230. — Green-Windisch, Die Enzyme, S. 439 ff. — Bayliss, Das Wesen der Enzymwirkung, übers. v. Schorr; Dresden 1910, S. 57.

[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 2101, 1890.

auch auf die in nahem Zusammenhang stehende Frage der Hitzebeständigkeit der Diastase ausgedehnt worden.

Daß Enzyme als Katalysatoren mit den Körpern, die sie spalten, zunächst in Bindung treten müssen, ist wohl ziemlich allgemein angenommen, insbesondere auf Grund der Versuche E. Fischers über die Abhängigkeit der spezifischen Wirkung der Enzyme von Unterschieden der sterischen Konfiguration. Neuer und weniger anerkannt ist der Gedanke an eine Beziehung bzw. Bindung zwischen Enzymen und den von ihnen erzeugten Spaltungsprodukten.

Henri[1]) hat zuerst für die Invertzuckerbildung durch Invertin wahrscheinlich gemacht, daß das wirksame Enzym nicht nur mit dem Rohrzucker zusammentritt, sondern auch mit dem gebildeten Invertzucker in Bindung bleibt und hat den zeitlichen Fortgang bei seinen Inversionsversuchen darstellen können unter der Voraussetzung, daß beide Arten der Bindung den allgemeinen Gleichgewichtsbedingungen chemischer Vorgänge gehorchen. Dabei ist allerdings die Birotation der entstandenen Zucker unberücksichtigt geblieben, so daß diese Schlüsse nicht einwandfrei erscheinen. Ähnliche Ergebnisse erhielt er dann[2]) für die Einwirkung von Trypsin auf Gelatine. A. Wohl[3]) hat die Bindung des Enzyms an den entstandenen Zucker für die Erklärung des Gleichgewichts der Enzymproduktion herangezogen. Abderhalden und Gigon[4]) fanden, daß beim Abbau von optisch aktiven Polypeptiden (Glycyl-l-tyrosin) das hydrolysierende Ferment in direkte Bindung zu den entsprechenden Abbauprodukten tritt, und Beobachtungen ähnlicher Art bei der Eiweißspaltung sind in den letzten Jahren mehrfach mitgeteilt worden (Hedin, Bayliss u. a.).

Danach scheint es sehr wohl möglich, daß auch die Hemmung der Stärkehydrolyse auf einer Bindung des Enzyms an den entstandenen Zucker zurückzuführen ist, ohne daß damit irgendwelcher Aufbau zu höheren Kohlenhydratkomplexen verknüpft wäre. Das war also zu untersuchen.

---

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 135, 916 bis 919.

[2]) Victor Henri und Larguier des Baucels, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 136, 1357 u. 1581; Compt rend. Soc. Biol. 55, 864.

[3]) Zeitschr. f. angew. Chem. 20, 1169 bis 1177, 1907.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 251 bis 279, 1907.

Prüfung auf Reversionswirkung der Amylase.

Es wurden Maltoselösungen, und zwar von 10, 20 und 40% [1]) wie auch 20%ige Glucoselösungen der Einwirkung verschiedener Mengen Amylase (Diastase Merck) bei wechselnden Zeit- und Temperaturbedingungen unterworfen; hierbei konnte weder eine Zunahme noch Abnahme der reduzierenden Wirkung gegen Fehlingsche Lösung festgestellt werden. Der letzte mit Glucose ausgeführte Versuch steht, auch abgesehen von der Verschiedenheit des verwendeten Enzyms, mit den Angaben von Croft Hill bezüglich der Reversion der Glucose nicht in Widerspruch, denn diese von Croft Hill beobachtete Reversionswirkung durch Hefemaltase tritt auch erst bei sehr viel höheren Konzentrationen nnd wochenlanger Berührungsdauer merklich hervor.[2]) Schon daraus hätte man auf die Unwahrscheinlichkeit des Einflusses einer Reversionswirkung für die hier untersuchte Frage schließen können, bei der die Hemmung der Diastase auch in ziemlicher Verdünnung auftritt. Die biologische Bedeutung der Entdeckung Croft Hills wird durch diese Feststellung natürlich nicht berührt. In der lebenden Zelle kann Zucker lokal in höchster Konzentration sich ansammeln und die geringsten Mengen löslicher Aufbauprodukte dauernd, ehe sie weiterer Veränderung unterliegen, durch Adsorption an kolloidalen Oberflächen und Osmose fortgeschafft und so der Fortgang der Reaktion in der Richtung des Aufbaus aufrecht erhalten werden.

a) Maltose. Temp. 20° C.

10% Maltose + 10 ccm 10% Amylase (A.)

sofort abgetötet	nach 24 St. abgetötet
0,185	0,184

20% Maltose + 10 ccm 10% A.

sofort abgetötet	nach 48 St. abgetötet
0,188	0,188

40% Maltose + 20 ccm 20% A.

sofort abgetötet	nach 4 Tagen abgetötet
0,184	0,184

[1]) Das heißt 10, 20 bzw. 40 g Maltose, enthalten in 100 ccm der Lösung. Ich unterscheide im Unterricht von den eigentlichen Gewichtsprozenten (Gramm Substanz in 100 g Mischung) und Volumprozenten (Kubikzentimeter Substanz in 100 ccm Mischung) den Ausdruck der Prozentigkeit ohne Zusatz als besonderen Wert, definiert als Gramm wirksame Substanz in 100 ccm Lösung und mache für praktische Konzentrationsangaben von der letztgenannten Form der Angabe ausschließlich Gebrauch. Es empfiehlt sich das wegen der Beziehung zu den Normallösungen. A. Wohl.

[2]) Vgl. die Zusammenstellung weiter unten.

b) Glucose. Temp. 20° C.

20% Dextrose + 10 ccm 10% A.

sofort abgetötet	nach 3 Tagen abgetötet
0,349	0,3495

Zusammenstellung.

	Tage	Reversion %
10 ccm A.-Lös. + 10 ccm 10% Maltoselös.	1	0
10 „ „ + 10 „ 20% „	2	0
10 „ „ + 20 „ 40% „	4	0
10 „ „ + 20 „ 20% Glucoselös.	3	0
Nach Croft Hill (Hefemaltase) 20% Glucoselös. .	19	1,2
„ „ „ „ 40% „ .	14	7,5
„ „ „ „ 40% „ .	70	15

Hemmung der Amylase durch Maltose und andere Zuckerarten.

Als Maß der Hemmung diente die Verminderung der Zuckerbildung bei der Einwirkung auf Stärkekleister gegenüber Amylaselösungen gleicher Konzentration, die keinen hemmenden Zusatz erhalten hatten. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß auf 100 ccm 3% Stärkekleister 5 ccm der Enzymlösung bei Gegenwart verschiedener Maltosemengen 1 Stunde lang bei 17° einwirkten, dann wurde auf ca. 1% Zuckergehalt verdünnt, der Reduktionswert für 25 ccm bestimmt und auf die Gesamtmenge umgerechnet. Ferner wurde für die gleichen Maltoselösungen ohne Stärke, aber mit der gleichen Amylasemenge versetzt, nach 1stündigem Stehen bei 17° der Reduktionswert festgestellt und von der oben erhaltenen Zahl in Abzug gebracht; das ist dann der Stärkeverzuckerungswert. So ergab sich z. B. mit wechselnden Mengen einer 20% Maltoselösung:

	Zunahme an Maltose mg
100 ccm Stärkel., 100 ccm Wasser, 5 ccm A.	1071
100 „ „ 25 „ 20% Maltose, 75 ccm Wasser, 5 ccm A.	750
100 „ „ 50 „ „ 50 „ „ 5 „ „	620
100 „ „ 75 „ 20% „ 25 „ „ 5 „ „	435
100 „ „ 100 „ 20% „ 5 ccm A.	122

Durch Anwendung einer 40% Maltoselösung ließ sich dann eine Konzentration von 20% in der Gesamtmischung erreichen, bei der die Amylase durch Bindung so weit gehemmt ist, daß

sie innerhalb 1 Stunde keine zuckerbildende Wirkung auf zugesetzte Stärke mehr ausübt.

	Zunahme an Maltose mg
100 ccm Stärkel., 100 ccm Wasser, 5 ccm A.	1269
100 „ „ 25 „ 40% Maltose, 75 ccm Wasser, 5 ccm A.	866
100 „ „ 50 „ 40% „ 50 „ „ 5 „ „	176
100 „ „ 100 „ 40% „ 0 „ „ 5 „ „	0

In der folgenden Tabelle sind die Zahlen, die die Hemmung der Zuckerbildung durch Maltosezusatz veranschaulichen, mit den beim Zusatz anderer Zuckerarten erhaltenen Ergebnissen zusammengestellt. Die Ausführung der Versuche erfolgte wie oben beschrieben, die angegebenen Werte entsprechen den durch die noch wirksame Amylase aus Stärke gebildeten Zuckermengen.

I. Rohrzucker.

	Zunahme an Maltose mg
100 ccm Stärkel., 100 ccm Wasser, 5 A.	1570
100 „ „ 25 „ 40% Rohrz., 75 ccm Wasser, 5 A.	1467
100 „ „ 50 „ „ „ 50 „ „ 5 „	1467
100 „ „ 50 „ „ „ 50 „ „ 5 „	1467
100 „ „ 75 „ „ „ 25 „ „ 5 „	1467
100 „ „ 100 „ „ „ 5 A.	1467

II. Lävulose.

100 ccm Stärkel. + 100 ccm Wasser + 5 A.	1570
100 „ „ 25 „ 40% Lävulose, 75 ccm Wasser, 5 A.	1560
100 „ „ 50 „ „ „ 50 „ „ 5 „	1560
100 „ „ 75 „ „ „ 25 „ „ 5 „	1560
100 „ „ 100 „ „ „ 5 A.	1560

III. Mannose 40%ige Lösung.

20 ccm Stärke + 1 A. + 20 ccm Wasser	244
20 „ „ + 1 „ + 5 „ 40% Mannoselösung + 15 ccm Wasser . . .	223
20 „ „ + 1 „ + 10 „ „ Mannoselösung + 10 ccm Wasser . . .	207

IV. Galaktose 40%ige Lösung.

20 ccm Stärke + 1 A. + 20 ccm Wasser	350
20 „ „ + 1 „ + 5 „ 40% Galaktose + 15 ccm Wasser . . .	303
20 „ „ + 1 „ + 10 „ „ Galaktose + 10 ccm Wasser . . .	229
20 „ „ + 1 „ + 20 „ „ Galaktose	208

V. Dextrin 30%ige Lösung.	Zunahme an Maltose mg
100 ccm Stärkel. + 100 ccm Wasser + 5 A.	1820
100 „ „ + 25 „ 30% Dextrin + 75 ccm Wasser, 5 A.	878
100 „ „ + 50 „ „ „ + 50 „ „ 5 „	490
100 „ „ + 100 „ „ „ + 0 „ „ 5 „	456
20 „ Stärke + 1 A. + 20 ccm Wasser	339
20 „ „ + 1 „ + 5 „ 30% Dextrinl. + 15 ccm Wasser	179
20 „ „ + 1 „ + 10 „ „ Dextrin + 10 ccm Wasser	112
20 „ „ + 1 „ + 20 „ „ Dextrin + 0 ccm Wasser	87

VI. Maltose.	
100 ccm Stärkel., 100 ccm Wasser, 5 A.	1570
100 „ „ 25 „ 40% Maltose, 75 ccm Wasser, 5 A.	1059
100 „ „ 50 „ „ „ 50 „ „ 5 „	522
100 „ „ 75 „ „ „ 25 „ „ 5 „	0
100 „ „ 100 „ „ „ 5 A.	0
20 ccm Stärke + 1 A. + 20 ccm Wasser	277
20 „ „ + 1 „ + 5 „ 40% Maltose, 15 ccm Wasser	105
20 „ „ + 1 „ + 10 „ „ „ 10 „ „	58
20 „ „ + 1 „ + 15 „ „ „ 5 „ „	0
20 „ „ + 1 „ + 20 „ „	0

VII. Glucose.	
100 ccm Stärkel., 100 ccm Wasser, 5 A.	1570
100 „ „ 25 „ 40% Glucose, 75 ccm Wasser, 5 A.	800
100 „ „ 50 „ „ „ 50 „ „ 5 „	0
100 „ „ 75 „ „ „ 25 „ „ 5 „	0
100 „ „ 100 „ „ „ 5 A.	0
20 „ Stärke + 1 A. + 20 ccm Wasser	277
20 „ „ + 1 „ + 5 „ Glucose + 15 ccm Wasser	86
20 „ „ + 1 „ + 10 „ „ + 10 „ „	42
20 „ „ + 1 „ + 15 „ „ + 5 „ „	0
20 „ „ + 1 „ + 20 „ „ + 0 „ „	0

Zusammenstellung.

Zuckerzusatz auf Lösung	Stärkeverzuckerung	Diastasehemmung %
10% Glucose	0	100
15 „ Maltose	0	100
15 „ Dextrin	1/4	75
20 „ Galaktose	2/3	33
10 „ Mannose	4/5	20
20 „ Rohrzucker	1	0
20 „ Fructose	1	0

Die experimentelle Untersuchung der oben entwickelten Frage hat also gezeigt, daß unter den Versuchsbedingungen, die hier in Frage kommen, eine Reversionswirkung auch nicht spurenweise auffindbar ist; es sind vielmehr die genannten Erscheinungen mit der Annahme einer Bindung von Zucker an das Enzym im besten Einklange. Diese Bindung der Amylase an den Zucker wächst mit der Konzentration der Lösung und wird in einer 15% Maltoselösung so vollständig, so daß dann die Zuckerbildung aus Stärke unter den gewählten Versuchsbedingungen[1]) unmerklich geworden ist. Statt einer 15% Maltoselösung bedarf es nur einer 10% Dextroselösung, um die in beiden Versuchen gleichmäßig verwendete Diastasemenge (0,025%) in diesem Sinne vollständig zu binden. Dagegen setzen die stärkst herstellbaren Lösungen käuflicher Dextrine (15%) die Wirksamkeit der Amylase nur bis auf 25% des Urwertes herab, vermindern sie also um $^3/_4$, um so mehr übrigens, je stärker das Dextrin selbst Fehlingsche Lösung reduziert. Dextrin ist also im wesentlichen insoweit wirksam, als es Zuckereigenschaften hat. Eine 20% Galaktoselösung vermindert die Amylasewirkung nur um $^1/_3$, eine 10% Mannoselösung sogar nur um 15%. Rohrzucker und Lävulose erwiesen sich als völlig ohne Einfluß auf die zuckerbildende Kraft des Enzyms. Man könnte also zunächst das Ergebnis so zusammenfassen, daß für die Bindung des Enzyms an Zucker in erster Reihe der Charakter des Zuckers als Aldose bestimmend ist, für die Stärke der Wirkung sind dann nicht näher bekannte Bedingungen der sterischen Anpassung maßgebend. Jedenfalls aber steht die Amylasehemmung weder zu dem Wasserbindungsvermögen (Grüß, Wortmann), das ja für die sehr löslichen Zucker Lävulose und Rohrzucker besonders groß ist, in Beziehung, noch zu der enzymatischen Wirkung selbst, denn Glucose, die am stärksten bindet, ist ja kein Produkt der Amylasespaltung.

Nach den Erfahrungen der Praxis ist in Lösungen mit ca. 16% Stärke die Verzuckerungsgrenze etwa 80% der Theorie,

[1]) Es handelt sich bei dieser Amylasehemmung, wie schon Brown und Heron hervorgehoben haben, nur um eine starke Verlangsamung, nicht um eine völlige Aufhebung der Wirkung, so daß also für eine wesentlich längere Digestionsdauer als 1 Stunde eine allmähliche Zunahme des Zuckers bemerkbar wird. Vgl. weiter unten.

bei 20% Stärke etwa $^2/_3$; es sind also, wenn die Amylasewirkung aufhört, bzw. so stark verlangsamt ist, daß die Zuckerzunahme in 1 Stunde unmerklich wird, etwa 13 bis 14% Maltose in Lösung, d. i. dieselbe Menge, deren Zusatz wir oben als notwendig für diese vollständige Hemmung festgestellt haben; damit ist diese Beobachtung in dem in der Einleitung dargelegten Sinne aufgeklärt. Wie erscheint es nun verständlich, daß frühere sorgfältige Beobachter (Brown und Heron, Kjeldahl) einen Einfluß der Maltose überhaupt nicht oder nur in ganz hohen Konzentrationen (Grüß) feststellen konnten. Wie bei so vielen einander widersprechenden Beobachtungen auf diesem Gebiete liegt die Ursache auch hier in erster Reihe in der Vielgestaltigkeit der Amylasewirkung. Die Stärke als solche und mit ihr die Jodreaktion verschwindet bekanntlich, indem die Lösung dünnflüssig wird, aber dabei entstehen neben Zucker Zwischenprodukte, die erst durch weitere hydrolytische Spaltung in das Endprodukt Zucker übergehen. Auch wenn das wirkende Enzym in beiden Fällen das gleiche ist, brauchen die beiden Vorgänge durch wechselnde Versuchsbedingungen nicht in gleicher Weise beeinflußt zu werden und so können wesentliche Abweichungen der Ergebnisse erhalten werden, je nachdem man die Amylasewirkung aus dem Verschwinden der Stärke (Verflüssigungsvermögen) oder der Zunahme des Zuckers (Verzuckerungsvermögen) beurteilt.

Brown und Heron (l. c.) hatten nur das Verschwinden der Stärke mittels der Jodreaktion verfolgt. Der Versuch zeigt in der Tat, daß bei einem Maltosezusatz, der das Verzuckerungsvermögen bei 1stündiger Digestion vollständig aufhebt, das Verflüssigungsvermögen noch erhalten bleibt. Das wurde, wie folgt, colorimetrisch geprüft.

Als Vergleichslösungen wurden einmal 4 ccm einer 3% Stärkelösung (I) und einmal 2 ccm (II) zu 1 Liter verdünnt und davon je 80 ccm mit 10 Tropfen Jodlösung versetzt.

Nun wurden zu 100 ccm 3% Stärkelösung 75 ccm 40%ige Maltoselösung und 5 ccm 1%ige A. hinzugefügt und nach 1 Stunde zu 250 ccm aufgefüllt. Eine Zuckerbestimmung zeigte, daß, den Ergebnissen der obigen Tabelle entsprechend, der Maltosegehalt nicht zugenommen hatte. Dann wurden je einmal 10 (III) und einmal 5 ccm (IV) dieser Lösung (ent-

sprechend 4 und 2 ccm der ursprünglichen Stärkelösung) zum Liter aufgefüllt, und je 80 ccm mit 10 Tropfen Jodlösung versetzt. Der Angriff der Diastase auf die Stärke bei voller Hemmung der Verzuckerung zeigte sich daran, daß die Lösungen statt der reinblauen Farbe der Vergleichsflüssigkeiten einen violetten Ton und etwa die halbe Farbstärke zeigten, so daß die stärkere, mit Amylase behandelte Lösung III etwa der schwächeren, nicht mit A. behandelten II gleich war. Daß die Gegenwart der zugesetzten Maltose wie der Diastase die colorimetrische Prüfung nicht beeinflußten, ergab sich daraus, daß die III und IV erhaltene Lösungen mit I bzw. II völlig übereinstimmten, wenn Auffüllen und Zusatz der Jodlösung nicht nach 1stündiger Amylasewirkung, sondern sofort erfolgte.

Also noch bei Gegenwart von 20% Maltose in der Lösung wird Stärke durch das Enzym nicht verzuckert, aber gelöst, und dementsprechend war Grüß, der auch nur mit Jodlösung gearbeitet hatte, erst bei Zusatz von etwa 30% Maltose zur Feststellung einer deutlichen Verminderung des Verflüssigungsvermögens gelangt und hatte deshalb auf die Gleichartigkeit der Maltose- und der bei etwa gleicher Konzentration auftretenden Glycerinwirkung bzw. auf eine Hemmung der Amylase nur durch Wasserentziehung geschlossen.

Kjeldahl (l. c.) hatte dagegen mit Fehlingscher Lösung das Verzuckerungsvermögen der Amylase mit und ohne Maltosezusatz geprüft und war doch zu dem Ergebnis gelangt, die Hemmung zu verneinen. Aber seine Versuche erstrecken sich nur bis zu 3 bis 4% Maltose in der Lösung, und die obige Tabelle zeigt, daß in diesem Konzentrationsgebiet die Hemmung noch gering ist.

Die Abweichung der Ergebnisse findet also in der Verschiedenartigkeit der Prüfungsverfahren und Versuchsbedingungen ihre vollständige Erklärung.

Aber Kjeldahl hatte auch einen zureichenden Grund dafür, seine Versuche bei der angegebenen Konzentration durchzuführen. Brown und Heron hatten kurz zuvor[1]) gefunden, daß auch in einer 5%igen Lösung von Stärke das scheinbare Gleichgewicht bei rund 80% Maltose und 20% Dextrin ein-

[1]) Liebigs Annalen 199, 222, 1879.

tritt, das entsprach einer praktisch vollständigen Hemmung bei ca. 4% Maltose in Lösung. Da nun Kjeldahl bei Zusatz von 3 bis 4% Maltose zur Lösung ziemlich dieselbe Stärkeverzuckerung beobachtete, als wenn er ohne Maltosezusatz arbeitete, so war es am nächstliegenden, eine Wirkung der Maltose auf den von Brown und Heron studierten Vorgang überhaupt in Abrede zu stellen.

Liegt nun in der Tat in der geringeren Konzentration ein anderer Grund der Hemmung vor, als wir ihn für die stärkere Lösung nachgewiesen haben? Die folgenden Versuche sind unternommen worden, um diese Frage zu beantworten.

Die Aufklärung ergibt sich hier wieder aus der Vielgestaltigkeit der hydrolytischen Stärkespaltung. Es ist nämlich nicht ganz richtig, wie es bisher stets geschehen ist, die Verzuckerung von Stärke selbst ohne weiteres und in allen Fällen als Maß dafür zu nehmen, ob Amylase unter bestimmten Versuchsbedingungen überhaupt noch ihre Verzuckerungsfähigkeit besitzt oder nicht. Wenn bei Einwirkung auf eine Stärkelösung irgend einer Konzentration scheinbares Gleichgewicht bei 80% der verwendeten Stärke an Maltose und 20% an Dextrin eintritt, so ist ja gar keine Stärke mehr vorhanden, und wenn man einwandfrei den Einfluß der gebildeten Maltose auf den Fortgang der Reaktion feststellen will, so muß man zum Vergleich nicht Stärkelösungen, sondern entsprechend Dextrinlösungen der Einwirkung maltosehaltiger Amylase aussetzen. Solche Lösungen sind für diesen Zweck bisher nicht herangezogen worden. Natürlich ist käufliches Dextrin nicht verwendbar. Durch frühere Versuche des einen von uns[1]) ist festgestellt, daß die Säuredextrine im wesentlichen schwer angreifbare Reversionsprodukte, also etwas wesentlich anders sind, als die leichter hydrolysierbaren Zwischendextrine der enzymatischen Spaltung. Wir haben uns deshalb durch Verzuckerung von Stärke mit Amylase eine Maltose-Dextrinlösung hergestellt, nach Zerstörung des Enzyms die Maltose, der Hauptmenge nach, durch Vergärung entfernt, und dann die weitere Verzuckerung dieses Gärrückstandes, der ja im wesentlichen eine Dextrinlösung darstellt, durch frische Amylase mit und ohne Maltosezusatz geprüft.

[1]) A. Wohl, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 2105, 1890.

Einfluß der Maltose auf die Verzuckerung der Zwischendextrine.

(Nach Versuchen von Herrn stud. chem. Krumreich.)

In 3 l kochenden Wassers wurden 600 g lösliche Stärke gelöst und die Lösungen auf 40° abgekühlt. Nach dem Eintragen von Amylase (10 g Diastase Merck) wurde die Temperatur allmählich gesteigert (pro Minute um ca. 1°) bis zu einer Temperatur von 62,5°. Diese wurde eingehalten, bis mit Jodtinktur keine Stärke mehr nachweisbar war. Es wurde filtriert und in dem Filtrate in üblicher Art Maltose und Dextrin bestimmt; gefunden 14,09% Maltose und 6,8% Dextrin. Eine andere Probe des Filtrats, bei 17° weiter der Einwirkung der darin gelösten Amylase überlassen, lieferte nach 1 Stunde 14,26% und nach 5 Stunden 14,71% Maltose.

Eine Probe der filtrierten Maische (20 ccm) wurde dann mit frischer Amylase (10 ccm einer 5%igen Lösung) versetzt und 1 Stunde bei 17° belassen, eine weitere Probe (20 ccm) mit derselben Enzymmenge 1 Stunde lang bei 62,5° behandelt; die erste zeigte 15,01%, die zweite 16,17% Maltose.

Diese Versuche bestätigen zunächst die Angaben von Brown und Heron (l. c.), Märcker (Landw. Vers. 22, 69) und anderen, daß die Spaltung der Maltose nach Erreichung einer Konzentration von etwa $^2/_3$ des ursprünglichen Stärkewertes (ca. 20%) nur noch sehr langsam fortschreitet, aber durch Zugabe frischer Amylase beschleunigt wird.

Die filtrierte Maische wurde nun zur Abtötung der Diastase auf dem Dampfbad erhitzt, dann auf 1300 ccm verdünnt und in einer 2-l-Flasche mit 20 g Hefe zur Gärung angesetzt. Nach 4 Tagen wurde filtriert, 1200 ccm des Filtrats im Vakuum bei ca. 25 mm und 40° Badtemperatur auf ca. 450 ccm eingeengt und der so erhaltenen Dextrinlösung zur Klärung ca. 20 ccm aufgeschlämmter Tonerdebrei zugegeben. Das Filtrat zeigte dann nur noch eine geringe Trübung.

Die Dextrinlösung enthielt 7,18% Maltose und 10,12% Dextrin, d. h. auf die Dextrinkonzentration der verzuckerten Maische umgerechnet auf 6,8% Dextrin 4,82% Maltose. Es waren beim Maischen ca. 200 g Dextrin entstanden durch die Einwirkung von 10 g Diastase. Um also bei den nun folgen-

den Verzuckerungsversuchen das gleiche Verhältnis zwischen Diastase und Dextrin zu haben, waren auf je 1 g Dextrin je 2 ccm einer 2,5% Diastaselösung zuzusetzen und um die Maltosewirkung zu prüfen, so viel Maltose, daß das Verhältnis Dextrin:Maltose wie in der verzuckerten Maische 6,8:14,01 beträgt; die Ergebnisse sind unter I verzeichnet.

Dextrinlösung und Amylase (Dextrin- und A.-Konzentration wie bei der Maische). 17° C.

Zeit St.	Maltose I %	II %	III (30°) %
0	4,82	4,82	4,82
1	6,63	5,83	6,29
5	7,87*)	6,32	6,49
24	6,70	6,79	—

Dextrinlösung und Amylase unter Zugabe von Maltose (Dextrin-, A.- und Maltose-Konzentration wie bei der Maische). 17° C.

Zeit St.	Maltose I %	II %	III (30°) %
0	4,82	4,82	4,82
1	5,34	4,49	5,12
5	4,88	5,00	5,49
24	5,47	5,66	—

Bei der zweiten Versuchsreihe ist die zugegebene Maltose wieder in Abzug gebracht. Die Versuche mit der Dextrinlösung waren dann einige Tage später zur Kontrolle bei gew. Temperatur und bei 30° wiederholt. Die Ergebnisse sind unter II bzw. III verzeichnet. Der mit *) bezeichnete Wert der ersten Spalte (5 Stunden) ist danach wohl auf einen Versuchsfehler zurückzuführen.

Es hat sich also auch ohne Stärkezusatz und genau unter den Versuchsbedingungen, unter denen in der Maische der Vorgang stillsteht, die Hemmung durch Maltosezusatz beseitigt. Nun wurden zur Aufklärung der Ergebnisse von Brown und Heron die im übrigen gleich durchgeführten Versuche in stärkerer Verdünnung wiederholt. Die unter I verzeichneten Ergebnisse der folgenden Tabelle beziehen sich auf Verdünnung zur Hälfte (d. h. 3,4% Dextrin und Maltosezusatz bis 7%),

die unter II auf Verdünnung zu einem Viertel (d. h. 1,7% Dextrin und Maltosezusatz bis 3½%).

Dextrinlösung und Amylase bei Zimmertemperatur.

Zeit St.	Maltose I %	Maltose II %
0	2,41	1,2
1	2,91	1,6
5	3,26	1,6
24	3,44	1,7

Dextrinlösung und Amylase unter Zugabe von Maltose bei Zimmertemperatur.

Zeit St.	Maltose I %	Maltose II %
0	2,41	1,2
1	2,07	1,05
5	2,37	1,20
24	2,7	1,25

Die Dextrinlösung hatte bis zu den letzten Versuchen ca. 10 Tage gestanden; es wurde deshalb von neuem das Reduktionsvermögen festgestellt, da ja, wie eine leichte Trübung zeigte, noch Hefespuren darin verblieben waren, deren Abtötung durch Erhitzen hatte unterbleiben müssen, um etwaigen Veränderungen der Zwischendextrine vorzubeugen. Die Maltosezahl war von 4,82 auf 4,54 zurückgegangen. Auf diese Veränderung dürften Unregelmäßigkeiten der erhaltenen Werte zurückzuführen sein. Die aus diesen Zahlen folgenden Schlüsse werden aber durch solche kleinen Abweichungen nicht berührt.

Zusammenstellung.

Zunahme der Maltosezahl durch Amylase innerhalb 1 Stunde bei gewöhnlicher Temperatur:

Maische mit 6,8% Dextrin und 14% Maltose 0,17%				Bemerkungen mit neuer Amylase 0,93%
Dextrinl. „ 6,8 „	„	„ 4,82 „	„ 1,8 „ 1,3%	
„ „ 6,8 „	„	„ 14 „	„ 0,4 „ 0,1 „	Maltosezusatz
„ „ 3,4 „	„	„ 2,41 „	„ 1,3 „	
„ „ 3,4 „	„	„ 7 „	„ −0,3 „	„
„ „ 1,7 „	„	„ 1,2 „	„ 1,9 „	
„ „ 1,7 „	„	„ 3,5 „	„ −0,3 „	„

Die vorstehende Zusammenstellung zeigt zunächst in Übereinstimmung mit den bei Stärkelösungen erhaltenen Ergebnissen, daß Maltosezusatz in der bei der Stärkeverzuckerung entstehenden Konzentration den weiteren Fortgang der Verzuckerung so verlangsamt, wie es der aus der Praxis bekannten Amylasehemmung entspricht; sie zeigt darüber hinaus, daß eine solche Hemmung auch bereits durch sehr viel geringere Maltosekonzentrationen herbeigeführt wird, wenn dem Enzym nicht frische Stärkelösung dargeboten ist, sondern nur die Einwirkung auf das bereits entstandene Dextrin zur Beobachtung kommt. Damit ist das von Brown und Heron in verd. Lösung beobachtete scheinbare Gleichgewicht ebenfalls auf die Wirkung der Maltoseanhäufung zurückgeführt. Es ergibt sich weiter, daß dieses scheinbare Gleichgewicht durch Zugabe frischer Stärkelösung ebenso wie durch frische Amylase gestört wird, wie das für die direkte Stärkeverzuckerung Brown und Heron festgestellt hatten, ohne diese Tatsache aber zur Erklärung der Erscheinungen heranzuziehen. Welche Schlüsse sich daraus über die Art des enzymatischen Vorganges ergeben, soll unten im Zusammenhange dargelegt werden.

Es ist endlich noch geprüft worden, ob die Bindung der Amylase an den Zucker bei längerer Berührungsdauer zunimmt; ein solcher Einfluß der Zeit konnte aber nicht festgestellt werden, wie folgende Versuche zeigen.

I. a) 100 ccm Stärke + 5 ccm 1% A. + 100 Wasser 1stündige Einwirkung.

Maltose: 1636 mg.

b) 100 ccm Stärke + 5 ccm 1% A. + 25 ccm 40% Glucose + 75 Wasser 1stündige Einwirkung nach Abzug der zugefügten red. Zucker:

Maltose: 1059 mg.

c) 5 ccm 1% A. + 25 ccm 40% Glucose + 75 Wasser 24 Stunden bei 2° stehen gelassen, dann 100 ccm 3% Stärke hinzugefügt nach 1stündiger Einwirkung nach Abzug der zuges. red. Zucker:

Maltose: 1059 mg.

II. a) 20 ccm 3% Stärke + 1 ccm 1% A., 20 Wasser 1stündige Einwirkung:

Maltose: 316 mg.

b) 20 ccm 3% Stärke + 1 ccm 1% A. + 5 ccm 40% Maltosel. + 15 Wasser 1stündige Einwirkung nach Abzug der zuges. red. Zucker:

Maltose: 219 mg.

c) 5 ccm 40% Maltosel. + 15 ccm Wasser + 1 ccm 1% A. 24 St. bei 2° stehen gelassen, dann 20 ccm 3% Stärke hinzugefügt nach 1stündiger Einwirkung nach Abzug der zuges. red. Zucker:
Maltose: 212 mg.

Einfluß der Zuckerarten auf die Hitzebeständigkeit der Amylase.

Eine zweite lange bekannte Beobachtung aus dem Gebiete der Amylasewirkung ist die größere Beständigkeit der Lösungen beim Erhitzen, wenn ein Substrat in der Lösung zugegen ist, auf das das Enzym hydrolytisch einwirkt. Daß Malzextrakt durch längeres Erwärmen auf 68° einen Teil seiner diastatischen Kraft einbüßt, hatte schon Bourquelot festgestellt. Delbrück und Petzold[1]), dann Lintner[2]) fanden, daß das Enzym um so höhere Temperaturen vertragen kann, je mehr Zucker in Lösung ist, und von letzterem wurde unter Berufung auf ähnliche von Adolf Mayer geäußerte Ansichten die Auffassung entwickelt, daß die Beständigkeit mit dem Zustand hydrolytischer Wirkung oder Ruhe des Enzyms zusammenhängen. Nach Märcker rührt die Schutzwirkung von der Maltose her. Weiter liegt nur die Angabe vor, daß die gleiche Wirkung von Rohrzucker in sehr viel geringerem Maße ausgeübt wird. Dextrin ist nicht geprüft worden. (Vgl. Märcker und Delbrück, Handb. d. Spiritusfabrikation, 9. Aufl., S. 52.)

Um zunächst die Beobachtung von Märcker an verschiedenen Kohlenhydraten zu verfolgen, wurden folgende Versuche ausgeführt: Von einer 10% Lösung des käufl. Enzyms (20 g Diastase absolut Merck mit 150 ccm dest. Wasser längere Zeit geschüttelt, dann auf 200 ccm aufgefüllt und filtriert) wurden je 10 ccm mit 10, 20, 40 und 80 ccm 10%iger Lösungen von Maltose, Invertzucker oder Dextrin versetzt und 10, 20 und 30 Minuten im Wasserbade bei einer Temperatur von 60° gehalten. Nach dieser Zeit wurden die Lösungen mit Wasser verdünnt und auf Zimmertemperatur abgekühlt. Die auf 100 ccm aufgefüllten Lösungen wurden gut durchgeschüttelt und 5 ccm dieser nun 1%igen Diastaselösung in 100 ccm einer 3% Stärkelösung gegeben, 1 Stunde bei 17° digeriert,

[1]) Zeitschr. f. Spir., Ind. 1882, 121.
[2]) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 15, 300, 1892.

danach zur Unterbrechung des Vorganges 10 ccm Kupfersulfatlösung zugesetzt, auf 200 ccm aufgefüllt und filtriert. Von dem Filtrate sind je 25 ccm in der üblichen Weise 4 Minuten mit 50 ccm Fehlingscher Lösung gekocht und die reduzierte Kupfermenge bestimmt worden. Die der Kupfermenge entsprechende Maltosezahl ist mit 8 multipliziert und davon der Reduktionswert der zugefügten Zucker abgezogen. Die so berechneten Maltosewerte sind in den Tabellen zusammengestellt und geben die Verzuckerungswirkung in Milligramm Maltose unter den angegebenen Umständen für 5 ccm einer 1% Amylaselösung, d. i. für 0,05 g Diastase (Merck).

Bei jeder Versuchsreihe wurde der Maltosewert der nicht erhitzten Enzymlösung in der Weise bestimmt, daß 10 ccm 10% A. auf 100 ccm verdünnt und davon 5 ccm zu 100 ccm 3% Stärkelösung gegeben wurden.

Diese ursprüngliche Verzuckerungsfähigkeit der einzelnen, nicht zuvor erhitzten Amylaselösungen ist mit a bezeichnet.

Die folgende Tabelle stellt die ersten Versuchsreihen dar, bei denen gleiche Enzymmengen mit steigenden Mengen der 10%igen Lösungen erhitzt worden sind; es ändert sich also nicht nur die Zuckermenge, sondern auch das Verhältnis A.:Wasser, dagegen ist das Verhältnis Zucker:Wasser annähernd konstant.

Erhitzungsdauer Min.	10 ccm 10%	10 A. + 10 ccm	10 A. + 20 ccm	10 A. + 40 ccm	10 A. + 80 ccm
		1. Maltose. a = 1444 mg.			
10	390	827	963	1240	1250
20	230	798	826	991	1157
30	209	734	703	976	1028
		2. Invertzucker. a = 1416 mg.			
10	642	990	972	992	1005
20	466	717	756	776	829
30	278	560	563	527	549
		3. Dextrin (gelb, 1 g = 206 mg Cu). a = 1766 mg.			
10	757	1386	1397	1362	1232
20	537	1123	1140	1210	1118
30	299	956	961	914	918
		4. Dextrin (weiß, 1 g = 92 mg Cu). a = 1766 mg.			
10	664	678	671	622	814
20	376	376	418	369	299
30	362	320	258	341	341

Nur bei der Maltose nimmt mit steigender Menge der Zuckerlösung die noch nachweisbare Verzuckerungsfähigkeit ein wenig zu, behält aber auch für 8 g Maltose auf 10 ccm A. und bei der kürzesten Erhitzungsdauer (10 Min.) nur 86,5% des ursprünglichen Wertes; bei den anderen Zusätzen sind die Werte jeder Horizontalreihe für die 2. bis 5. Spalte überhaupt so gut wie völlig konstant, und die Schutzwirkung ist danach fast ganz unabhängig von der Menge des in 10%iger Lösung zugegebenen Invertzuckers bzw. gelben Dextrins. Nimmt man als Maß der Schutzwirkung die erhalten gebliebene Verzuckerungskraft (Milligramm Maltose) in Prozenten der ursprünglichen Verzuckerungskraft (a), vermindert um die Verzuckerungskraft der ohne Zusatz erhitzten Lösung (Spalte 1), so erhält man als Mittel der drei für 10, 20 und 30 Min. bestimmten Werte und für 2 und 4 g Zusatz:

	2 g	4 g
Maltose . .	38,4%	54,9%
Invertzucker	21,3%	21,4%
Dextrin gelb	36,0%	35,7%

Dextrin weiß mit sehr geringem Reduktionsvermögen erweist sich, wie bei den Hemmungsversuchen, auch hier sehr viel weniger fähig, Amylase zu binden als das stärker reduzierende gelbe Präparat; eine Schutzwirkung ist nur beim höchsten Zusatz und kürzester Erhitzungsdauer eben erkennbar. Die nächste Tabelle zeigt die Werte, die bei gleich erhaltenem Volumen der Gesamtlösung durch verschiedene Zuckerzusätze bedingt werden; hier wurden demgemäß zu 10 ccm 10% A. steigende Mengen der 50%igen Zuckerlösungen hinzugefügt und das Vol. durch Zusatz von Wasser in allen Fällen auf 20 ccm ergänzt.

Erhitzungsdauer Min.	Zusatzmenge auf 20 ccm in Gramm									
	0	0,2	0,4	0,8	1,2	1,6	2	3	4	5
	Maltose. a = 1327 mg.									
10	586		938	1062	1200	1230	1324	1340	1349	1418
20	438		938	1022	1061	1151	1231	1285	1292	1327
30	438		651	918	978	1109	1188	1257	1264	1274
	Traubenzucker. a = 1066 mg.									
10	516	703	800	874	918	938	970	1002	1053	1030
20	494	685	785	860	908	888	926	966	1031	1016
30	494	526	650	800	794	808	840	895	988	980

(Fortsetzung vorhergehender Tabelle.)

Erhitzungsdauer Min.	Zusatzmenge auf 20 ccm in Gramm									
	0	0,2	0,4	0,8	1,2	1,6	2	3	4	5
	Invertzucker. a = 1105 mg.									
10	544	696	728	936	970	1040	1056	1074	1145	1317
20	452	537	614	528	678	749	820	962	1010	1090
30	408	442	480	547	610	664	752	880	930	960
	Dextrin gelb. a = 1381 mg.									
10	864	945	980	1062	1094	1130	1232	1267	1384	1370
20	494	700	892	835	863	895	1000	1201	1200	1230
30	488	593	715	735	820	890	961	1047	1194	1156
	Stärke. a = 1245 mg.									
10	692	658	692	707	800	878	943	1094	1130	1210
20	493	678	678	742	693	742	764	828	906	1051
30	418	600	600	604	622	700	750	799	842	907
	Rohrzucker. a = 1504 mg.									
10	742	715	753	800	835	893	930	1080	1219	1338
20	459	566	585	578	651	727	832	870	1111	1315
30	341	498	480	523	564	687	785	847	1018	1232

Es enthielten dann diese 20 ccm neben 1 g Diastase (Merck) 0,02 bis 5 g Zucker. Im übrigen ist, wie zuvor beschrieben, verfahren worden. Bei Dextrin, Stärke und Rohrzucker wurde zur Bestimmung der vorgebildeten reduzierten Zucker der Reduktionswert der zu der Stärkelösung zugesetzten 5 ccm jedesmal besonders ermittelt und in Abzug gebracht.

Kleine Schwankungen der Digestionstemperatur und der Anwärmungsdauer sind nicht ganz vermeidbar und besonders für die ersten (10 Min.) Werte von Einfluß; die Ausgangslösungen der Diastase haben nicht immer das gleiche Verzuckerungsvermögen, und die Abnahme dieses letzteren ist nur ein ziemlich willkürliches Maß für die Verminderung der Enzymmenge; das alles erklärt genügend, daß die vorstehenden Zahlenreihen nicht ganz regelmäßig verlaufen. Immerhin gestatten sie einige Schlüsse, die deutlicher hervortreten, wenn man statt der direkt gefundenen Zuckerwerte die Schutzwirkung zusammenstellt, d. i. die erhalten gebliebene Verzuckerungskraft in Prozenten der ursprünglichen Verzuckerungskraft, vermindert um das Verzuckerungsvermögen der ohne Zusatz erhitzten Lösung; das gibt die folgende Tabelle, und zwar zur Erleichterung der Übersicht nur für Zusatz von 2 und 4 g der verschiedenen Kohlenhydrate.

Verzuckerungsvermögen in Prozenten des Anfangswertes a.

Zuckerart	Erhitzungsdauer Min.	I Ohne Zusatz	II Mit Zusatz von 2 g in 20 ccm	III Mit Zusatz von 4 g in 20 ccm	Schutzwirkung Differenz II—I	III—I
Maltose . .	10	44,2	96,8	101,7	55,6	57,5
	20	33,0	92,8	97,3	59,8	64,3
	30	33,0	89,5	95,3	56,5	62,3
					57,3	61,4
Glucose . .	10	48,4	91,0	98,8	42,6	50,4
	20	46,3	86,9	96,7	40,6	50,4
	30	46,3	78,9	92,7	32,6	46,4
					38,6	49,1
Invertzucker	10	49,2	95,6	103,1	46,4	53,9
	20	40,9	74,2	91,4	33,3	50,5
	30	36,0	68,0	84,2	32,0	48,2
					37,2	50,9
Dextrin . .	10	62,6	89,2	100,2	27,6	37,6
	20	35,7	72,4	86,9	36,5	52,2
	30	35,3	69,6	86,5	34,3	51,2
					33,9	46,7
Rohrzucker .	10	49,3	61,8	81,9	12,5	31,7
	20	30,5	55,3	73,9	25,2	43,35
	30	22,7	52,2	67,7	29,5	44,99
					22,4	40
Stärke . . .	10	55,6	75,8	90,8	20,2	35,2
	20	39,6	61,4	72,5	21,8	32,9
	30	33,6	60,2	67,6	26,6	34
					22,2	34

Danach weist die Maltose, wie die oben zitierten Literaturangaben erwarten ließen, die größte Wirkung auf, indem sie bereits in 10%iger Lösung bei 10 Minuten Erhitzungsdauer vollständige Erhaltung der enzymatischen Kraft ermöglicht. Für die untereinander ziemlich gleich wirkenden Zusätze, Traubenzucker, Invertzucker und Dextrin, ist die doppelte Konzentration erforderlich, schwächer schützt Rohrzucker, am geringsten Stärke.[1])

[1]) Chrszaszcz und Pierozek (Zeitschr. f. Spir.-Ind. 33, 81, 1910) haben ganz kürzlich nach Abschluß dieser Arbeit die Schutzwirkung der Stärke geprüft und durch die Angabe gekennzeichnet, daß die Stärke die Wirkungsgrenze der Amylase um ca. 10° erhöht (von 65 auf 75°); diese Versuche beziehen sich aber nur auf die Erhaltung des Verflüssigungsvermögens, stehen also mit den obigen Angaben über die relativ geringe Schutzwirkung bzw. der Verzuckerung nicht im Widerspruch.

Die Bindung der Amylase an den schützenden Zusatz steht also zu einer hydrolytischen Wirkung auf diesen Zusatz in keiner Beziehung.

In allen Fällen nimmt die Schutzwirkung mit der Konzentration des Zusatzes in Lösung zu; daß dafür die Konzentration, nicht die absolute Menge maßgebend ist, erweist der Vergleich mit den in der Tabelle zuvor verzeichneten Werten, wie daselbst hervorgehoben wurde.

Bei diesen Versuchen zeigte sich regelmäßig, daß auch in ganz gleicher Abstufung mit wachsender Konzentration des Zusatzes die Eiweißkoagulation in diesen Lösungen verhindert wird, so daß Lösungen von 5,4 und 3 g Zucker nach dem Erhitzen auf 60° fast völlig klar blieben, während die anderen, geringer prozentigen mit fallendem Zuckergehalt steigende Trübung bzw. Fällung aufweisen.

Es wurden zum Beispiel

1.	10 ccm 10% A.	+ 3 g Maltose	auf 20 ccm aufgefüllt und 30 Min. auf 60° erwärmt.
2.		+ 2 g „	
3.		+ 3 g Dextrin	
4.		+ 2 g „	
5.		+ 3 g Rohrzucker	
6.		+ 2 g „	

Die Ordnung nach der Trübung ergab folgende Reihe:

1, 2, 3, 5, 6, 4.

Ferner wurden:

1.	10 ccm 10% A.	+ 5 g Maltose	auf 20 ccm aufgefüllt und 30 Min. auf 60° erwärmt.
2.		+ 4 g „	
3.		+ 3 g „	
4.		+ 2 g „	
5.		+ 5 g Rohrzucker	

1 und 5 zeigten leichtes Opalescieren; bei den anderen deutliche Trübung, die in der Reihenfolge 2, 3, 4 zunahm.

Brown und Heron (Lieb. Ann. 199, 248), die die Schwächung der ursprünglichen Malzlösungen beim Erhitzen eingehend untersuchten, haben bereits aus dem gleichen Gange der Abschwächung der Enzyme mit der Gerinnung der Eiweißstoffe beim Erhitzen der Lösungen auf nahe Beziehungen beider Vorgänge geschlossen. Die oben festgestellte Tatsache, daß die spezifische Schutzwirkung gewisser Zucker, die die Wirksamkeit des Enzyms erhält, in gleicher Abstufung auch die Koagulation der Lösungen ver-

hindert, gibt für diese Auffassung eine weitere wichtige Begründung.

Natürlich ist das nicht so zu verstehen, daß das, was durch Koagulation der Eiweißstoffe aus der Lösung ausfällt, im ganzen der Träger der enzymatischen Wirkung sein muß. Vielmehr läßt sich zunächst nur folgern, daß diese Wirkung durch Koagulation der Eiweißstoffe regelmäßig vermindert und schließlich aufgehoben wird, und das wird schon der Fall sein, wenn das wirksame Enzym selbst ein Kolloid ist und durch allmähliche Koagulation der gesamten Kolloide der Lösung im steigenden Maße mit zur Gerinnung kommt. Es sprechen ja bereits sehr viele Tatsachen dafür, daß Enzyme, wenn vielleicht nicht immer, so doch jedenfalls in der Regel kolloidale Katalysatoren darstellen, und so darf man erwarten, zu einem besseren Verständnis vieler Einzelheiten der Enzymwirkungen zu gelangen, wenn man die allgemeinen Erfahrungen über die Fällung von Kolloiden untereinander und von der Adsorption gelöster Stoffe an Kolloide auf die enzymatischen Vorgänge anwendet. Das ist bei der enzymatischen Stärkehydrolyse bisher nicht durchgeführt.

Amylase als kolloidaler Katalysator.

Die durch die obigen Versuche teils bestätigten, teils neu gewonnenen Erfahrungen lassen sich am einfachsten unter dem Gesichtspunkte zusammenfassen, daß die Amylase einen kolloidalen Katalysator von einem den Eiweißstoffen ähnlichen chemischen Charakter darstellt; über die chemische Einheitlichkeit soll damit und kann nichts weiter ausgesagt werden, als daß zwingende Gründe, eine Mehrheit von Amylasen anzunehmen, nicht bestehen. Es ist zunächst hervorzuheben, daß für die Wirksamkeit eines Enzyms zwei Bedingungen zusammentreffen müssen: Die molekulare Bindung des Substrates und die Möglichkeit der reaktiven Einwirkung auf dasselbe. Es kann also sehr wohl die eigentliche hydrolytische Wirkung der Amylase auf die Stärke und ihre Umwandlungsprodukte trotz der Wandelbarkeit der Ergebnisse unter wechselnden Versuchsbedingungen ein durchaus gleichartiger Vorgang sein, und die Abhängigkeit der Reaktionsstufe von den äußeren Umständen braucht nicht auf chemischen Verschiedenheiten des Enzyms zu beruhen. Es kommen da als Ursachen ebensogut die verschiedenen

Bedingungen für die Adsorption von Stärke und Dextrin an die kolloidale Amylase und Verschiedenheiten des Dispersionsgrades dieses Kolloids in Frage. Amylase hat, wie die Eiweißkörper, den Charakter einer amphoteren Säure, bei der die Säureeigenschaften überwiegen; das folgt aus Adsorptionsversuchen von Michaelis und Ehrenreich (diese Zeitschr. 10, 229). Daraus erklärt sich die Ähnlichkeit der Koagulationsbedingungen von Enzym- und Eiweißstoffen der Lösung, sowohl beim Erhitzen wie beim Filtrieren durch porösen Ton (Brown und Morris, Ann. 199, 249). Natürlich braucht diese Koagulation nicht unter allen Versuchsbedingungen parallel zu laufen; so haben Maquenne und Roux[1]) beobachtet, daß Malzlösungen mehrere Tage bei 50° digeriert, trotz Koagulation, an Wirksamkeit zunahmen. Die Amylase muß in der allein wirksamen, ganz schwach sauren Lösung nach dem Ergebnis von Michaelis und Ehrenreich positiv geladen sein. Die Stärke wandert in annähernd neutraler Lösung zur Anode, wie durch elektrische Überführungsversuche festgestellt wurde,[2]) trägt also negative Ladung, sei es, daß das der chemisch reinen Stärke selbst zukommt, oder Wirkung der gebundenen Phosphate (Fernbach, Tanret, vgl. Chem. Centralbl. 1909, II, 1637) ist. Daraus folgt zunächst, daß sich Stärke und Diastase beim Zusammentreffen aufeinander kolloidal verteilen müssen, und daß eine bestimmte Wasserstoff-Ionen-Konzentration ein Optimum darstellen wird, bei der sich die amphotere Diastase so ladet, daß durch die Fällung der entgegengesetzt geladenen Stärke ein isoelektrischer Punkt erreicht wird.[3]) Die nicht mehr oder nur noch im geringeren Maße kolloidalen Zwischendextrine werden durch Adsorption an das Enzym gebunden. Ebenso wird Maltose und die anderen Zuckerarten, deren Hemmungswirkung untersucht wurde, adsorbiert. Der Fortgang der primären Stärkespaltung und der weiteren Zuckerbildung wird also bedingt sein durch

---

[1]) Compt. rend. 142, 1388.

[2]) F. Bottazzi, Chem. C. 1909, II, 1423.

[3]) Das ist die eine Möglichkeit für den Einfluß der H'- bzw. OH'-Konzentration auf die Enzymwirkung, dazu kommt die weitere, daß durch Adsorption an der Enzymoberfläche die Ionen in sehr viel höherer Konzentration als in der Lösung mit dem Substrat in Berührung kommen; vgl. A. Wohl, Organ. Chem. u. die Lehre vom Leben, Danzig 1910, S. 38.

die Verteilung des kolloidalen Enzyms zwischen diesen Bindungsmöglichkeiten. Daraus folgt dann weiterhin die oben hervorgehobene Tatsache, daß die Hemmung der weiteren Verzuckerung durch die gebildete Maltose keine absolute ist, sondern eine Verzögerungserscheinung, entsprechend der Verminderung an freier Diastaseoberfläche. Von der vorhandenen Enzymmenge kann um so weniger an Dextrin gebunden sein und somit dieses Dextrin weiterspalten, je mehr sie Maltose bindet. Die oben gegebene Auffassung macht ferner die bekannte Erfahrung verständlich, daß bei großem Diastaseüberschuß die Hemmungserscheinungen fortfallen, weil dann, trotz der Adsorption der Maltose noch genügend wirksame Diastaseoberfläche übrig bleibt; dasselbe ist natürlich der Fall bei Zugabe frischer Diastase. Ferner ist ohne weiteres gegeben, daß die Verzögerung durch Störung des Adsorptionsgleichgewichtes, also durch Fortschaffen oder Verdünnen der Maltose aufgehoben wird. Darüber hinaus erklärt sich dann die bisher ganz unverständliche Tatsache, daß eine durch Maltoseanhäufung festgelegte Diastase auch ohne Fortschaffung oder Verdünnung der Maltose neu zugesetzte Stärkemengen mit fast unverminderter Geschwindigkeit angreift (Brown und Morris). Die neu zugefügte heterogene Phase (verkleisterte Stärke) muß natürlich in der Lösung, aus der die Stärke verschwunden war, eine neue Enzymverteilung bedingen. Indem sich das kolloidale Enzym auf der kolloidalen Stärke niederschlägt, wird es der Lösung wie durch Ausschütteln entzogen. Ähnlich liegt wohl der Fall für den Unterschied des Maltoseeinflusses auf das Verflüssigungs- und Verzuckerungsvermögen; wenn auch die zugesetzte Maltose die Diastase so vollständig gebunden hat, daß Dextrin nicht mehr erheblich adsorbiert, also auch nicht mehr merklich verzuckert werden kann, so ist doch das Bindungsvermögen an die entgegengesetzt geladene kolloidale Stärke nicht verloren gegangen und damit der Angriff unter Verflüssigung ermöglicht. Daß dann der Vorgang auch unter Zuckerbildung weiterläuft, spricht auch für die einheitliche Natur des hydrolytischen Agens, das auf die einmal gebundene Stärke einwirkt, bis die entstandenen Dextrine wegen der Adsorptionsverdrängung durch die im großen Überschuß gegenwärtige Maltose aus der kolloidalen Phase in die Lösung übergeführt sind. Ebenso steht die Sache mit der Tem-

peraturabhängigkeit[1]) von Verzuckerungs- und Verflüssigungsvermögen, die sich erklären aus der bekannten Beeinflussung des kolloidalen Zustandes durch Erhitzen; das gröber gewordene Kolloid kann zwar noch durch ein anderes Kolloid (Stärkekleister) niedergeschlagen werden, wird aber bei geringerer Oberfläche nicht mehr das frühere Adsorptionsvermögen für lösliche Dextrine besitzen, so daß also die Verflüssigung noch fast unvermindert eintritt, wenn die Verzuckerungskraft schon stark geschwächt ist. Gestützt wird die Auffassung der Amylasehemmung als Adsorption weiter durch die oben mitgeteilte Beobachtung, daß die absoluten Mengen der Zuckerzusätze bei der Schutzwirkung fast ohne Einfluß sind und wesentlich die Konzentration, das Verhältnis Zucker:Wasser, die Intensität der Amylasebindung bestimmt. Die tatsächlich erforderlichen Zuckermengen sind viel zu groß, als daß hier eine molekulare Bindung nach stöchiometrischen Verhältnissen überhaupt in Frage käme. Die Zucker wirken also als eine Art Schutzkolloid, und daß diese Wirkung erst bei höherer Konzentration wesentlich zur Geltung kommt, steht im besten Einklang mit den Beobachtungen von Lobry de Bruyn[2]), daß Zuckerlösungen erst in hoher Konzentration selbst den Charakter kolloidaler Lösungen zu zeigen beginnen. Weiter ordnen sich auch andere ältere Angaben über das Verhalten des Malzenzyms den allgemeineren Erfahrungen über das Verhalten der Kolloide ein. Die Abschwächung durch wiederholtes Fällen entspricht der Veränderung des Dispersionsgrades, der Einfluß von Elektrolyten ist schon oben in diesem Sinne erläutert. Ähnlich dürfte der Fall liegen, wenn Diastase durch

[1]) Die neuesten sorgfältigen Versuche von Chrzaszcz, Zeitschr. f. Spir.-Ind. 32, 520ff., 1909, zeigen unter Widerlegung älterer Angaben, daß das Temperaturoptimum für die Verflüssigung und Verzuckerung näher beieinander liegt, als man früher annahm und somit ein oft geltend gemachter Grund für die Verschiedenheit des Agens für den einen und den anderen Vorgang mindere Bedeutung hat. Damit sind aber die sonstigen sicher festgestellten Unterschiede des Verlaufs der Verflüssigung und Verzuckerung und ihre Abhängigkeit von der Vorbehandlung der Diastase usw. nicht beseitigt. Diese Verschiedenheiten finden bei Annahme eines einzigen hydrolytischen Enzyms erst durch die obigen Darlegungen eine zureichende Erklärung.

[2]) Rec. trav. 23, 155.

Filtration in einen diffusiblen (stärker dispersen) und einen indiffusiblen (minder dispersen) Anteil zerlegt wird [Fränkel und Hamburg[1])]. Auch dann erweist sich der erstere wesentlich adsorptionsfähiger, wirkt also verzuckernd auf die Dextrine, während der zurückbleibende Anteil nur hochkolloidale Stärke zu binden und somit zu hydrolysieren vermag, also wesentlich verflüssigend wirkt. Es werden so die Unterschiede der enzymatischen Wirkung für den diffusiblen und nicht diffusiblen Anteil auf die Verschiedenheit der kolloidalen Verteilung zurückgeführt, ebenso wie die Unterschiede der Angreifbarkeit verschiedener Anteile des Stärkekornes nach Fouard[2]) durch Verschiedenheit des Dispersionsgrades am besten erklärbar sind. Auf den ersten Blick scheinen die Ergebnisse von Lintner und Sollied[3]) hierzu im Gegensatz zu stehen. Sie fanden in gewissen Malzsorten bei der üblichen Art der Bestimmung ein normales Verzuckerungsvermögen, während dabei die Verzuckerung im Malz selbst nur langsam vorwärts ging, und schlossen daraus, daß bei normalem Gehalt an Verzuckerungsamylase der Gehalt an Verflüssigungsamylase vermindert sei. Berücksichtigt man aber die Complexe und wechselnde Zusammensetzung von Lösungen gedarrten Malzes, so bieten sich so viele Möglichkeiten der verschiedenartigen Beeinflussung eines chemisch einheitlichen Enzyms durch die Reaktion der Lösung, die Gegenwart anderer Hemmungskörper als Zucker usw., daß aus dem oben angegebenen Ergebnis die Existenz mehrerer Amylasen auch nicht gefolgert werden kann.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 389, 1906.

[2]) Compt rend. 144, 501.

[3]) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 26, 329, 1903.

Über den Einfluß von Zucker auf die Permeabilität tierischer Darmmembranen.

Von

Ernst Mayerhofer und Ernst Stein.

(Aus der Kinderabteilung des k. k. Kaiser-Franz-Joseph-Spitales und dem k. k. serotherapeutischen Institut in Wien.)

(Eingegangen am 15. Juni 1910.)

Mit 7 Figuren im Text.

Durch die Anwendung der Diffusionsgesetze auf tote tierische Darmmembranen wurden bereits typische Befunde erhoben. Wir erwähnen die erhöhte Permeabilität, die sich immer bei Menschen und Tieren im Säuglingsalter bei der durch artfremde Milchernährung hervorgerufenen akuten Enteritis konstatieren ließ; ferner die verminderte Permeabilität der Darmwand chronisch atrophischer Tiere.[1]) Es wurde bereits der Beweis erbracht,[2]) daß die Funktionsstörung der erhöhten Permeabilität durch den erhöhten Wassergehalt der Darmmembran bedingt ist (Quellung). Die bei chronisch atrophischen Tieren sich einstellende verminderte Permeabilität der Därme, welcher Zustand stets dem Überstehen der akuten Enteritis folgt, wurde nach dem heutigen Stande der histologischen Arbeiten und der Membranlehre auf die bindegewebige Atrophie der Darmwand zurückgeführt (verminderte Quellbarkeit).

---

[1]) Mayerhofer und Pfibram, Das Verhalten der Darmwand als osmotische Membran bei akuter und chronischer Enteritis. Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 25.

[2]) Mayerhofer und Pfibram, Über die Beeinflussung der Diffusionsvorgänge an frischen tierischen Darmmembranen. Diese Zeitschr. 1909, 469.

Aus theoretischen Gründen wurde zuerst der Einfluß verschiedener chemischer Mittel auf die Permeabilität studiert;[1]) aus praktischen Gründen stellten wir uns dieses Mal die Frage: Wie verändert Zucker die Permeabilität der Darmmembran? Uns erscheint die Lösung dieser Frage sehr wichtig, da bisher fast alle Autoren bei der Besprechung der Säuglingsenteritis nur vitale Vorgänge beschrieben und studierten. Zweifelsohne wird jedoch der eine Teil der Resorption durch Gesetze der physikalischen Chemie beherrscht (H. J. Hamburger, Hofmeister), während der andere Teil der Resorption vitaler Natur ist. Wenn man jedoch die gesamte Resorption betrachten will, so kann man die grundlegenden physikalischen Verhältnisse nicht ausschalten. Nur ganz verstreut findet man in der pädiatrischen Literatur hypothetische Annahmen von Permeabilitätsveränderungen, in Verlegenheit gleichsam als Ausweg gewählt. Viel präziser nehmen Finkelstein und L. F. Meyer Störungen der osmotischen Funktionen der Darmwand an; wir sind daher genötigt, unsere experimentell erhobenen Befunde mit den Befunden dieser so exakt beobachtenden Kliniker zu vergleichen, wobei weitgehende Übereinstimmungen sich ergaben.

Wir messen die Permeabilität der gesamten Darmmembran, da wir die Epithelschicht allein nach unserer Methode nicht studieren können. Es ist jedoch anzunehmen, daß die bisher gefundenen Unterschiede in der Permeabilität noch größer wären, wenn wir bloß die Epithelschicht, die ja zu allererst und am intensivsten von alimentären Schädlichkeiten und physikochemischen Einwirkungen betroffen wird, untersuchen könnten.

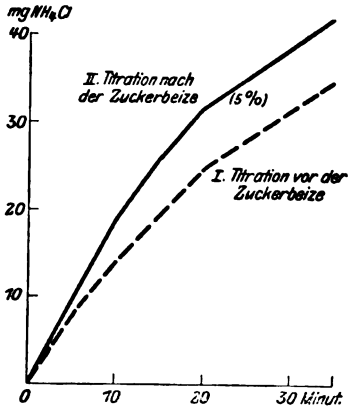
Versuche: 1.

Wir wählten zuerst Darmabschnitte von einem noch gesäugten, darmgesunden Kaninchen, bestimmten die Diffusionskurve durch Verwendung einer Normal-Ammoniumchloridlösung; nach Benützung des Darmes zu diesem 35 Minuten dauernden Vorversuch (Probetitration) wird das Darmrohr soweit als möglich chlorfrei gewaschen und hernach in eine 5%ige Dextroselösung ($1^1/_2$ Stunde) gelegt. Nachher wird der Darm abermals mit destilliertem Wasser so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine Chlorreaktion mehr gibt. Eine abermalige Titration ergab nun an demselben Darmstück eine wesentlich steilere Diffusionskurve, wie aus der nachstehenden Tabelle und Kurve (Nr. 1) erhellt.

---

[1]) Siehe Note 2 vorhergehender Seite.

I. Titration eines Dünndarmabschnittes, gefüllt mit 1 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,0535 g.					II. Titration desselben Dünndarmabschnittes nach einer $1^1/_2$stündigen Beize in 5%iger wässeriger Dextroselösung, gefüllt mit 1 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,0535 g.				
$^n/_{10}$-Ag. NO_3 ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in %: des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in %: des jeweilig. Inhalts	Zeit in Min.	Zeit in Min.	$^n/_{10}$-Ag. NO_3 ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in %: des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in %: des jeweilig. Inhalts
1,4	0,0075	13,9	13,9	5	5	1,7	0,0091	16,9	16,9
1,2	0,0064	12,0	13,9	5	5	1,7	0,0091	16,9	20,4
1,0	0,0054	10,0	13,5	5	5	1,4	0,0075	13,9	21,2
1,0	0,0054	10,0	15,6	5	5	1,1	0,0059	10,9	21,1
2,0	0,0107	20,0	37,0	15	15	1,9	0,0103	19,2	45,0



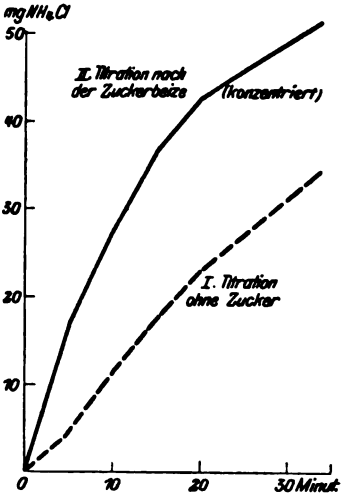
Kurve 1.

Da nicht ausgeschlossen werden kann, daß neben der Zuckerbeize auch der vorangegangene Vorversuch die Darmmembran durchgängiger gestaltet hat, so variierten wir die Konzentration der Zuckerbeize. Unter sonst gleichen Versuchsbedingungen wählten wir dieses Mal eine Beize von konzentrierter Dextroselösung. Es ergab sich, daß die konzentrierte Zuckerbeize die Kurvenbilder noch differenter gestaltete als die 5%ige, wie aus dem nachstehenden Linienbild hervorgeht (Kurve Nr. 2).

I. Titration eines Dünndarmabschnittes, gefüllt mit 1 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,0535 g.					II. Titration desselben Dünndarmabschnittes nach einer $1^1/_2$stündigen Beize in konz. wäss. Dextroselösung, gefüllt mit 1 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,0535 g.				
$^n/_{10}$-Ag. NO_3 ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in %: des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in %: des jeweilig. Inhalts	Zeit in Min.	Zeit in Min.	$^n/_{10}$-Ag. NO_3 ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in %: des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in %: des jeweilig. Inhalts
0,8	0,0043	8,0	8,0	5	5	3,1	0,0166	31,0	31,0
1,1	0,0059	10,9	11,9	5	5	2,0	0,0107	20,0	29,0
1,0	0,0054	10,0	12,3	5	5	1,7	0,0091	16,9	34,6
1,0	0,0054	10,0	14,0	5	5	1,2	0,0064	12,0	37,48
2,2	0,0117	22,0	36,0	15	15	1,6	0,0086	16,0	80,0

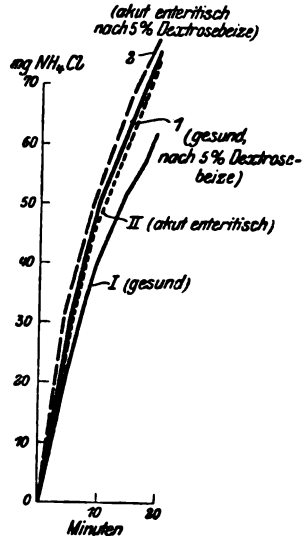
2.

In einer zweiten diesbezüglichen Versuchsreihe wählten wir junge Tierpaare desselben Wurfes; das eine Tier war natürlich genährt und gesund, während das andere durch künstliche Ernährung akut enteritisch wurde. Bei der Probetitration an homologen, unmittelbar vergleichbaren Darmabschnitten wurde der Befund einer erhöhten osmotischen Permeabilität des akut enteritischen Darmes erhoben. Nach dieser Vorprobe wurden die verglichenen Membranpaare durch 1 Stunde in 5%ige wässerige Dextroselösung gelegt; nach dem Auswaschen bis zum Verschwinden der Chlorreaktion wurde wieder an der Hand derselben Füllung die Permeabilität bestimmt, wobei gefunden wurde, daß der Unterschied zwischen dem akut enteritischen und dem gesunden Darm bestehen blieb, daß jedoch die Durchgängigkeit der mit Zucker gebeizten Därme bedeutend erhöht wurde.



Kurve 2.

Dickdarm (vom Coecum abwärts) eines gesunden, 9 Tage alten, gesäugten Meerschweinchens (98 g schwer). Gefüllt mit 2,5 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,1337 g Chlorammonium. I. Titration.					Dickdarm (vom Coecum abwärts) eines akut enteritischen, 9 Tage alten, künstlich genährten Meerschweinchens (62 g schwer). Gefüllt mit 2,5 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,1337 g Chlorammonium. I. Titration.				
$^n/_{20}$-Ag. NO_3 ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts	Zeit in Min.	Zeit in Min.	$^n/_{20}$-Ag. NO_3 ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts
8,5	0,0230	17,2	17,2	5	5	9,8	0,0262	19,7	19,7
6,5	0,0177	13,2	16,0	5	5	7,5	0,0203	15,2	19,0
4,8	0,0128	9,58	13,0	5	5	5,3	0,0144	10,8	16,5
3,7	0,0103	7,71	12,8	5	5	4,6	0,0123	9,2	16,8
II. Titration desselben Abschnittes nach 1stündiger Beize in 5%iger wässeriger Dextroselösung. Füllung wie oben.					II. Titration desselben Abschnittes nach 1stündiger Beize in 5%iger wässeriger Dextroselösung. Füllung wie oben.				
10,2	0,0273	25,5	25,5	5	5	11,8	0,0316	29,5	29,5
7,6	0,0203	19,0	25,4	5	5	7,5	0,0203	19,0	26,5
5,6	0,0150	14,0	25,2	5	5	5,9	0,0155	14,5	28,1
4,2	0,0112	10,5	25,3	5	5	3,9	0,0103	9,6	26,0

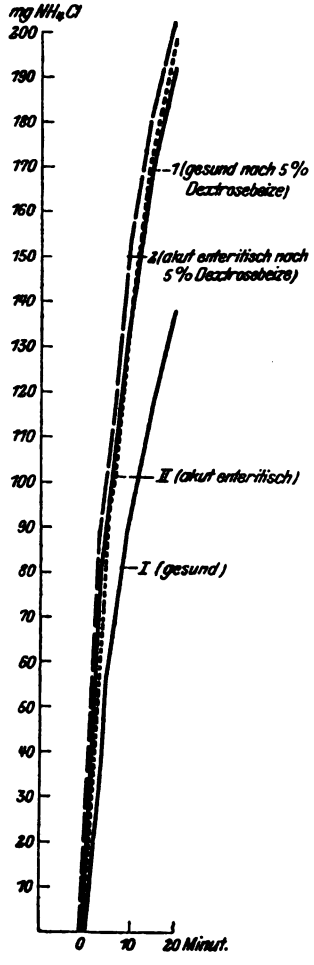


Kurve 3.

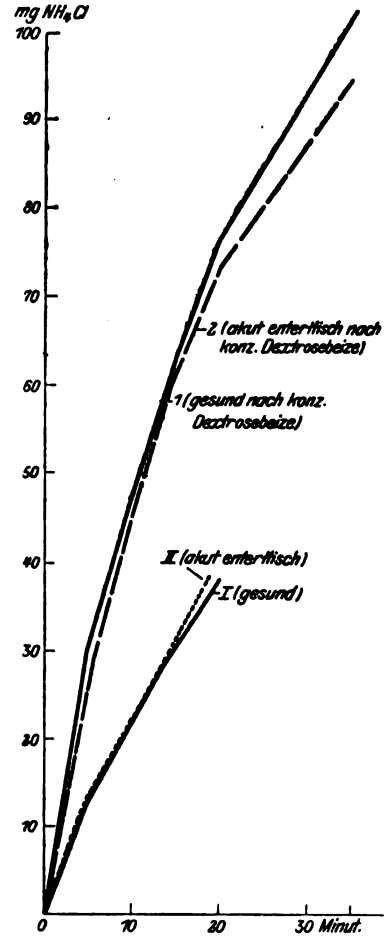
An den Dünndärmen desselben Tierpaares wurde der obige Befund ebenfalls bestätigt, wovon die nachstehende Tabelle Aufschluß gibt.

Dünndarm eines gesunden, 9 Tage alten, gesäugten Meerschweinchens (98 g schwer). Gefüllt mit 5 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,2675 g Chlorammonium.					Dünndarm eines akut enteritischen, 9 Tage alten, künstlich genährten Meerschweinchens (62 g schwer). Gefüllt mit 5 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,2675 g Chlorammonium				
I. Titration.					I. Titration.				
$^n/_{20}$-$Ag.NO_3$ ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts	Zeit in Min.	Zeit in Min.	$^n/_{20}$-$Ag.NO_3$ ccm	NH_4Cl g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts
21,6	0,0578	21,6	21,6	5	5	33,9	0,0880	32,9	32,9
12,7	0,0342	12,8	16,32	5	5	18,6	0,0498	18,5	27,72
10,0	0,0268	10	15,25	5	5	13,7	0,0364	13,5	28,04
7,7	0,0198	7,4	13,31	5	6	9,1	0,0241	8,9	26,4
II. Titration desselben Abschnittes nach 1stündiger Beize in 5%iger wässeriger Dextroselösung. Füllung wie oben.					II. Titration desselben akut enteritischen Darmabschnittes nach 1stündiger Beize in 5%iger wässeriger Dextroselösung. Füllung wie oben.				
31,3	0,0837	31,3	31,3	5	5	37,0	0,0989	37,0	37,0
18,8	0,0503	18,7	27,35	5	5	20,3	0,0540	20,2	32,06
12,7	0,0342	12,8	26,65	5	5	11,8	0,0316	11,7	27,55
8,3	0,0246	9,2	24,8	5	5	7,0	0,0187	6,9	22,5

Durch die Verwendung einer konzentrierten Zuckerbeize statt einer 5%igen wurde die Permeabilität der damit behandelten toten Darmmembranen auch in dieser Versuchsanordnung um bedeutend mehr



Kurve 4.



Kurve 5.

gesteigert als durch die verdünnte Zuckerlösung, ein Befund, wie er ja auch aus dem Vergleiche der Kurvenpaare Nr. 1 und Nr. 2 erhellt. Dieses Mal wurde sogar der allerdings geringe Unterschied in der Durchlässigkeit der gesunden und der kranken Darmmembran überkompensiert (vgl. hierzu die diesbezüglichen Tabellen und Kurve Nr. 5).

Coecum eines gesunden, 9 Tage alten gesäugten Meerschweinchens (98 g schwer). Gefüllt mit 2,5 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,1337 g Chlorammonium.

I. Titration.

$^n/_{20}$-$Ag.NO_3$ ccm	$NH_4.Cl$ g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts	Zeit in Min.
4,8	0,0128	9,5	9,5	5
3,4	0,0091	6,81	7,5	5
3,2	0,0086	6,41	7,6	5
3,1	0,0080	6,0	7,77	6

II. Titration

desselben Coecums nach 1stündiger Beize in konzentrierter wässeriger Dextroselösung. Füllung wie oben.

11,2	0,0299	22,42	22,42	5
6,3	0,0171	12,74	16,5	5
6,05	0,0161	12,01	18,5	5
5,0	0,0134	10,0	18,9	5
9,7	0,0262	19,61	45,6	15

Coecum eines akut enteritischen 9 Tage alten, künstl. genährten Meerschweinchens (62 g schwer). Gefüllt mit 2,5 ccm N. NH_4Cl, d. i. 0,1337 g Chlorammonium.

I. Titration.

Zeit in Min.	$^n/_{20}$-$Ag.NO_3$ ccm	$NH_4.Cl$ g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts
5	4,8	0,0128	9,5	9,5
5	3,4	0,0091	6,81	7,5
5	3,6	0,0096	7,2	8,6
5	3,3	0,0086	6,41	8,36

II. Titration

desselben Coecums nach 1stündiger Beize in konzentrierter wässeriger Dextroselösung. Füllung wie oben.

5	10,0	0,0268	20,0	20,0
5	6,9	0,0187	14,0	17,6
5	6,05	0,0161	12,0	18,2
5	4,4	0,0118	8,81	16,2
15	8,1	0,0214	16,0	35,4

Für diese Überkompensation wie überhaupt für unsere gesamten Zuckerversuche können wir einstweilen nur vorübergehend auf die physikalischen Gesetze der Osmose hinweisen, die speziell in ihrer Anwendung auf organisierte semipermeable Membranen neue Probleme aufstellen. Die Aufklärung aller unserer diesbezüglichen Befunde muß einer eigenen Arbeit vorbehalten bleiben.

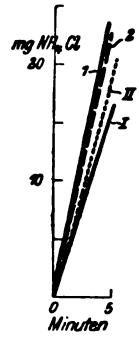
3.

Um nun den Fehler zu vermeiden, der durch die Verwendung einer bereits mit wässeriger Salzlösung imbibierten Membran entsteht — allerdings wird dieser Fehler beiderseits gemacht und hebt sich bei der Differenzbestimmung auf —, verwendeten wir bei den folgenden Versuchen nur Darmmembranen, die noch nicht durch einen Vorversuch alteriert worden sind. Wir legten dieses Mal analoge Därme verschiedener Tiere desselben Wurfes sofort in die Zuckerbeize, während an anderen vergleichbaren Darmabschnitten, die nachher nicht mehr benützt wurden, der zum Vergleiche unbedingt notwendige Ausdruck des osmotischen Charakters des gesamten Darmkanals eruiert wurde.

Diese Versuche werden von den folgenden drei Kurvenpaaren veranschaulicht. Wieder sehen wir, in welch hohem Grade Dextrose die Permeabilität der Darmmembran steigert.

I. und II. auf Kurve Nr. 6 bedeutet die Anfangsosmose an je 2 Dünndärmen zweier 6 Tage alter Meerschweinchen; I. bezieht sich auf ein gesundes, natürlich ernährtes Tier (77 g), II. auf ein akut enteritisches, mit Kuhmilch ernährtes (43 g); legt man die den untersuchten

nächst benachbarten Dünndarmstücke gleicher Länge durch 2 Stunden in eine 5%ige Dextroselösung und bestimmt nachher mit derselben Füllung (0,6 ccm Normal-NH_4Cl) die Permeabilität, so verschieben sich die Kurven gegen die Ordinatenachse; die Permeabilität der mit Zucker behandelten Darmmembranen ist nicht allein gestiegen, sondern auch der Unterschied zwischen akut enteritischer und gesunder Darmmembran ist aufgehoben worden. Der gleiche Befund wurde übrigens noch am Dickdarm derselben Tiere bei der Beize mittels konzentrierter Dextroselösung erhoben.



Kurve 6.

4.

Obwohl durch diese dreimalige Variation der Versuchsbedingungen bei wechselndem Ausschalten je einer Fehlerquelle mit Sicherheit hervorgeht, daß Dextrose die osmotische Durchgängigkeit der Darmwandung ganz kolossal erhöht, so wählten wir noch eine vierte Modifikation desselben Versuches gleichsam als endgültige Bestätigung der vorangegangenen Befunde.

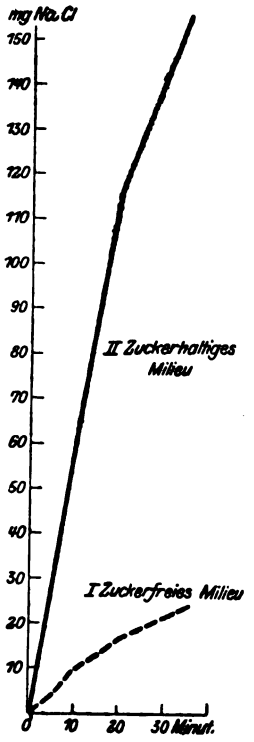
Von einem noch in der Entwicklung begriffenen Kaninchen nahmen wir 2 gleich lange, gesäuberte, benachbarte Dünndarmabschnitte. In das eine Stück wurden 3 ccm einer Normalkochsalzlösung eingebunden und gegen je 50 ccm destilliertes Wasser von 5 zu 5 Minuten diffundieren gelassen. Das andere gleich lange Stück wurde ebenfalls mit 3 ccm einer Normalkochsalzlösung gefüllt, die aber außerdem 10% Dextrose enthielt. Ebenso enthielt die Außenflüssigkeit, gegen die die Normalkochsalz + 10% Dextrose enthaltende Lösung ihr Natriumchlorid in osmotischen Austausch treten ließ, 10% Dextrose, so daß dieses Mal die Kochsalzdiffusion in einer 10%igen Dextroselösung vor sich ging.

In welch gewaltiger Weise durch das dextrosehaltige Milieu der osmotische Austausch gefördert wird, geht aus der nachstehenden Tabelle und Kurve hervor.

I. Dünndarm eines Kaninchens mit 3 ccm Normalkochsalzlösung gefüllt, in osmotischen Austausch gegen je 50 ccm destilliertes Wasser gebracht.					II. Dünndarm desselben Kaninchens, benachbartes Stück von I, mit 3 ccm Normalkochsalzlösung, die außerdem 10% Dextrose enthält, gefüllt; in osmotischen Austausch gegen je 50 ccm 10%iger Dextroselösung gebracht.				
$^n/_{10}$-$Ag.NO_3$ ccm	Na.Cl g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts	Zeit in Min.	Zeit in Min.	$^n/_{10}$-$Ag.NO_3$ ccm	Na.Cl g	Diffundierte Menge in % des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in % des jeweilig. Inhalts
0,7	0.0041	2,3	2,3	5	5	4,5	0,0265	15,0	15,0
0,9	0,0053	3,0	3,0	5	5	5,6	0,0329	18,66	21,9
0,6	0,0035	2,0	2,1	5	5	4,6	0,0270	15,33	23,1
0,6	0,0035	2,0	2,1	5	5	5,3	0,0312	17,67	34,5
1,3	0,0076	4,3	4,7	15	15	6,4	0,0376	21,34	63,99

Die dazu gehörige Kurve stellt die Verhältnisse noch viel anschaulicher dar.

Es erhellt also aus den vier mitgeteilten Versuchsanordnungen, daß ein zuckerhaltiges (Dextrose) wässeriges Milieu die Permeabilität tierischer Darmmembranen sehr stark erhöht.



Kurve 7.

Wenn wir dieses Mal wieder unsere in vitro angelegten Experimente mit den klinischen Erfahrungen vergleichen, so geschieht es einerseits deshalb, weil unverkennbare Analogien mit dem Leben bestehen, wir verweisen auf die Arbeiten von Groß, Finkelstein, L. F. Meyer, Sperk und Reuß; anderseits jedoch müssen wir betonen, daß die von uns in vitro konstatierte physikochemische Einwirkung von Zucker auf die Darmmembran auch im Leben vor sich geht.

In Übereinstimmung damit befinden sich die von Finkelstein so präzise angestellten Beobachtungen über zuckerreiche Nahrungsgemische, die mit der Sicherheit eines Experimentes jenen Symptomenkomplex vorbereiten und auslösen, den Finkelstein als Intoxikation bezeichnet.

Nach unseren Experimenten ist es verständlich, daß einer der Wege zur Dyspepsie und weiterhin zur Enteritis acuta durch Zucker gebahnt wird, wie ja auch die Verfasser[1]) des neuen Grundrisses für Säuglingsernährung und Säuglingsstoffwechsel sagen: „Unter den unzweckmäßig zusammengestellten Mischungen lösen besonders die mit größerer Zuckerkonzentration Dyspepsie aus."

[1]) L. Langstein, L. F. Meyer, Säuglingsernährung und Säuglingsstoffwechsel.

Über die Mengenverhältnisse der Diastase in den einzelnen Organen verschiedener Tierarten.

Von

Goichi Hirata, Okayama.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der kgl. Universität Berlin.)

(Eingegangen am 19. Juni 1910.)

Die Stoffwechselvorgänge, die sich in den Organen und im Blute abspielen, sind in weitem Umfange geknüpft an die Tätigkeit von bestimmten, spezifisch wirkenden Fermenten. Und wenn auch für viele Stoffwechselvorgänge bis heutigen Tages das entsprechende Ferment noch nicht gefunden ist, so unterliegt es doch keinem Zweifel, daß dasselbe in Wirklichkeit existiert, und daß es nur an der Mangelhaftigkeit in der Methodik liegt, daß man es bis heutigen Tages noch nicht hat fassen und identifizieren können. Die Erkenntnis also von der Wichtigkeit der Fermente für das Leben und die Lebensäußerung der Zelle darf heute als ein gesicherter Besitz der biologischen Forschung betrachtet werden. — Dagegen ist bisher noch nichts oder nur sehr wenig darüber bekannt, wie groß der Gehalt einzelner Organe an Fermenten ist. Der Grund hierfür dürfte wohl in erster Reihe darin zu suchen sein, daß, wenn man alle Organe bezüglich ihres Fermentreichtums untereinander vergleichen will, nur eine äußerst beschränkte Zahl von Fermenten hierfür in Betracht kommt; denn im Vergleich zu der Riesenzahl von überhaupt existierenden Fermenten gibt es verhältnismäßig nur sehr wenige, die gleichzeitig in allen Organen anzutreffen sind. Und zweitens — und das dürfte wohl der Hauptgrund sein — gab es bisher für kein Ferment eine Methode, mit der man seine Quantitäten in Körperflüssigkeiten und Organen gleichmäßig bequem und einfach hätte nachweisen können.

Nun ist aber neuerdings von Wohlgemuth[1]) ein Verfahren angegeben worden, das gestattet, die Diastase im Blut und im Urin ebenso wie in Organpreßsäften und -extrakten ganz leicht quantitativ zu bestimmen. Und außerdem ist die Diastase eines von den wenigen Fermenten, das in sämtlichen Organen anzutreffen ist. Denn überall da, wo in den Zellen Glykogen gebildet wird, ist auch Diastase vorhanden,[2]) und es gibt kaum ein Organ, das nicht glykogenhaltig ist. — Bezüglich ihrer Herkunft hat man früher geglaubt, daß die Diastase aus dem Blute stammte und von dem Blut in die Organe hineintransportiert sei. Das trifft aber nach den neuesten Untersuchungen nicht zu; so ist jedenfalls für die Leber von Pick[3]) und von Wohlgemuth[4]) mit Bestimmtheit nachgewiesen, daß sie in den Leberzellen selber enthalten ist, und so wird man auch für die andern Organe mit Leichtigkeit den Nachweis ihrer Bildung an Ort und Stelle erbringen können, wenn man in der gleichen Weise wie Wohlgemuth vorgeht und mit durch die Buchnerpresse gewonnenen Preßsäften arbeitet. — Auch bezüglich des Charakters der Diastase war man bis vor kurzem der Ansicht, daß die Diastase des Speichels verschieden ist von der Diastase des Pankreas und diese wiederum von der des Blutes und der Organe. Aus den Untersuchungen von Wohlgemuth geht aber ohne Zweifel hervor, daß alle drei miteinander identisch sind, und für die Leberdiastase hat die Identität neuerdings Starkenstein[5]) bewiesen. So darf man wohl annehmen, daß man es in allen Organen mit ein und derselben Diastase zu tun hat.

Quantitative Untersuchungen über die Diastasemengen in den einzelnen Organen sind bisher nur von wenigen Autoren angestellt worden. Und auch von diesen spärlichen Daten können nicht einmal alle für die Beurteilung der Diastasemengen in den betreffenden Organen in Betracht kommen. So durften für die vorliegende Frage die Zahlen, die Bang[6]) und seine Mitarbeiter für die Diastasemengen in der Leber unter nor-

[1]) Diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

[2]) Wohlgemuth, Leber und Galle. Oppenheimers Handbuch der Biochemie 3, 162, 1908.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 163, 1903.

[4]) Diese Zeitschr. 9, 29, 1908.

[5]) Diese Zeitschr. 24, 197, 1910.

[6]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 408, 1907 und 10, 312, 1907.

malen und pathologischen Bedingungen angeben, kaum zu verwerten sein aus Gründen, auf die näher einzugehen ich mir wohl ersparen kann, zumal an dieser Stelle bereits Wohlgemuth[1]) und seine Mitarbeiter und neuerdings auch Starkenstein[2]) gewichtige Bedenken gegen den von Bang angewandten Untersuchungsmodus geltend gemacht haben. Für meine Untersuchungen kommen darum ausschließlich in Betracht die von Wohlgemuth, Zegla und Benzur erhaltenen Resultate, die sich vorwiegend erstrecken auf die Diastasemengen des Blutes und der Leber resp. Nieren verschiedener Tierarten; sie sollen später im Zusammenhang mit meinen Befunden besprochen werden.

Was zunächst die Methodik anbetrifft, so bediente ich mich der von Wohlgemuth angegebenen quantitativen Diastasebestimmung, die im Prinzip so ausgeführt wird, daß man eine Reihe von Reagensgläsern mit absteigenden Mengen Ferment beschickt, zu jeder Portion 5 ccm einer 1%igen Stärkelösung zusetzt und nun das Ferment bei Brutschranktemperatur 24 Stunden wirken läßt. Nach Ablauf der Frist wird durch Zusatz von je 1 Tropfen $^n/_{10}$-Jodlösung die Grenze des vollkommenen Stärkeabbaues festgestellt und nach den Angaben von Wohlgemuth berechnet.

Zur Untersuchung kamen neben menschlichen Organen aus der Reihe der Säugetiere Organe vom Hund, vom Kaninchen, vom Meerschweinchen und von der Ratte, aus der Reihe der Vögel Organe vom Huhn, aus der Reihe der Fische Organe vom Karpfen und aus der Reihe der Amphibien Organe vom Frosch.

Die Verarbeitung der Organe geschah so, daß das Tier durch Entbluten getötet, das Blut durch Schlagen defibriniert und das Serum durch Zentrifugieren von den Blutkörperchen getrennt wurde. Die Organe selber wurden dann noch durch Ausspülen mit physiologischer Kochsalzlösung von den letzten Blutresten befreit, zerkleinert und in einer Handpresse unter Verwendung von Buchnerschem Preßtuch der Preßsaft gewonnen. Derselbe wurde frisch auf die einzelnen Gläschen verteilt und mit der Stärkelösung sofort vereint. Sämtliche Versuche wurden, um Fäulnis zu verhüten, stets unter Zusatz von Toluol ausgeführt.

Zur besseren Übersicht der Ergebnisse habe ich die Resultate jeder Tierart in eine Tabelle besonders zusammengestellt. Die mitgeteilten Werte sind nach den Angaben von Wohlgemuth berechnet und beziehen sich stets auf die Diastasekonzentration von 1 ccm nativem Preßsaft des betreffenden Organs. Beim Menschen und bei den größeren Tierarten machte es keine Schwierigkeiten, genügend Preßsaft aus den Organen zu bekommen, beim Meerschweinchen dagegen und beim Frosch und in einem Falle auch beim Fisch war ich gezwungen, mich wegen der Klein-

[1]) Diese Zeitschr. 21, 460, 1909 und Zegla, diese Zeitschr. 16, 111, 1909.

[2]) l. c., S. 203.

heit der Organe mit einem Extrakt zu begnügen. Die Werte, die mit einem solchen Extrakt gewonnen wurden, finden sich in den Tabellen mit [1]) bezeichnet. Die Extrakte wurden so hergestellt, daß das Organ in einer Reibschale fein verrieben und dann mit einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung extrahiert wurde.

Ich lasse zunächst die Werte für die menschlichen Organe folgen.

Tabelle Ia.
Organe von Menschen (Leichen).
A. Erwachsene.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D_{24^h}^{38^0}$	4720	37920	9480	Nr. I 53 Jahre alt
Niere . . .	„	5	20	20	„ II 20 „ „
Muskel . .	„	10	10	10	„ III 25 „ „
Leber . . .	„	5	10	10	
Milz	„	5	5	20	

Tabelle Ib.
Organe von Menschen (Leichen).
B. Kinder.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D_{24^h}^{38^0}$	80	9480	640	Nr. I 10 Woch. alt
Muskel .	„	—	10	10	„ II 9 Mon. „
Niere . .	„	—	10	5	„ III 5 Jahre „
Milz . . .	„	—	—	10	
Leber . .	„	5	—	—	

Zu diesen beiden Tabellen ist zunächst zu bemerken, daß sämtliche Organe 20 bis 24 Stunden post mortem zur Untersuchung kamen. Sie wurden zerkleinert und so lange mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis sich auf Druck kein Blut mehr aus den Geweben entleerte. Erst dann wurde der Preßsaft in der oben geschilderten Weise gewonnen und auf seinen Diastasegehalt untersucht.

Aus beiden Tabellen geht hervor, daß, wie ja auch zu erwarten war, das Pankreas die größte Diastasemenge aufzuweisen hat bei Erwachsenen sowohl wie bei Kindern, dann folgen Nieren und Muskeln, dann Leber und Milz. Besonders hingewiesen zu werden verdient auf Nr. I der Tabelle Ib, wo es sich um die Organe eines 10 Wochen alten Kindes handelt. Hier ist der Gehalt des Pankreas an Diastase im Verhältnis zu den beiden andern kindlichen Leichen noch sehr gering,

während die Leber schon einen Wert aufweist, wie sie die Leber des Erwachsenen zeigt. Dieser Befund erscheint uns auch ganz natürlich, denn wie aus den Untersuchungen von Ibrahim[1]) an menschlichen Foeten hervorgeht, ist die Diastase erst in einem späteren Stadium der Entwicklung im Pankreas anzutreffen und nimmt im Laufe des weiteren Wachstums zu. So darf man wohl annehmen, daß bei der Geburt die Organe noch arm an diastatischem Ferment sind und erst wenn größere Ansprüche an die Funktion der Organe gestellt werden, auch ihr Fermentgehalt wächst.

Tabelle II.

Organe vom Hund.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III
Pankreas . . .	$D_{24^h}^{38^0}$	37920	18960	18920
Blut	„	160	80	160
Leber	„	40	40	40
Niere	„	40	40	40
Muskel	„	20	20	20
Milz	„	20	10	20

Beim Hund besitzt ebenfalls das Pankreas die höchste Diastasekonzentration, und zwar bewegen sich hier die Werte ungefähr in gleichen Grenzen wie beim Menschen. Daß dieselben hier keine so großen Schwankungen zeigen wie vorhin, dürfte wohl in erster Linie darauf zurückzuführen sein, daß einmal das Tier durch Entbluten getötet wurde und darum die Organe gründlicher vom Blute befreit werden konnten, und zweitens, daß die Organe ganz frisch zur Untersuchung kamen.

Die Leber des Hundes ist erheblich reicher an Diastase als die des Menschen, und ebenso enthalten Nieren- und Muskelpreßsaft durchschnittlich größere Diastasemengen als die entsprechenden menschlichen Organe. Die Werte für Milz sind ungefähr die gleichen wie bei der menschlichen Milz. Was endlich das Blut anbetrifft, so ist der Diastasegehalt ein recht beträchtlicher und übertrifft die Werte für menschliches Blut — nach Wohlgemuth schwanken dieselben zwischen $D_{24^h}^{38^0} = 5 - 62{,}5$ — ganz erheblich. Demnach können wir sagen,

[1]) J. Ibrahim, Verhdl. d. 25. Vers. d. Ges. f. Kinderheilk. 1908, S. 21.

daß in dem gesamten Organismus des Hundes die Diastase in viel größerer Menge vorhanden ist als beim Menschen. Ob man hieraus folgern darf, daß die Diastase im Stoffwechsel des Hundes eine größere Rolle spielt als beim Menschen, möchte ich indes dahingestellt sein lassen.

Tabelle III.

Organe von der Katze.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III
Pankreas . . .	$D^{38^0}_{24^h}$	1280	320	640
Blut	"	80	80	80
Leber	"	20	40	40
Niere	"	20	20	20
Muskel	"	10	20	20
Milz	"	10	20	10

Auch bei der Katze nimmt bezüglich ihres Diastasegehaltes das Pankreas die erste Stelle ein, aber die Werte sind hier viel niedriger als beim Menschen und beim Hund, obwohl das Organ verhältnismäßig sehr groß ist. Dann folgen von den Organen Leber, Niere, Muskel und Milz, wenn wir nur die Diastasekonzentration des Preßsaftes in Rechnung setzen. Berücksichtigen wir aber gleichzeitig die Größe des Organes, so würde sich folgende Reihenfolge ergeben: Pankreas, Muskel, Leber, Niere, Milz. Vergleichen wir wieder die Werte mit denen in Tabelle Ia und Ib und Tabelle II, so müssen wir auch hier sagen, daß die Diastasemengen in den Organpreßsäften der Katze zwar nicht so groß sind wie die des Hundes, dagegen die des Menschen deutlich überwiegen. Auch der Diastasegehalt des Blutes der Katze ist höher als der des Menschen.

Tabelle IV.

Organe vom Kaninchen.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D^{38^0}_{24^h}$	4720	1280	2360	[1]) In d. Preßsäften der Milz wurde die unterste Grenze wegen Mangels an Material nicht genau festgestellt, sie übertrifft aber sicher die mitgeteilten Werte
Milz . . .	"	> 20[1])	> 40[1])	> 40[1])	
Leber . .	"	40	20	40	
Blut . . .	"	20	20	40	
Niere . .	"	10	20	20	
Muskel .	"	5	5	5	

Das Pankreas des Kaninchens ist wieder reicher an Diastase als das der Katze und steht auch hier an erster Stelle, dann folgen Milz, Leber, Niere und Muskeln, oder, nach dem Gewicht der Organe geordnet, Muskel, Leber, Niere, Milz. Das Blut enthält weniger Diastase als das vom Menschen, Hund und Katze. Im Vergleich zu den Organen des Menschen erscheint das Kaninchen ärmer an Diastase als der Mensch.

Tabelle V.

Organe vom Meerschweinchen.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D^{38^0}_{24^h}$	1280[1])	2360[1])	2360[1])	[1]) Wegen der Kleinheit d. Pankreas und der Milz wurden Extrakte, die in d. oben beschriebenen Weise hergestellt waren, zur Untersuch. verwandt
Blut . . .	„	320	640	320	
Leber . .	„	80	160	80	
Niere . .	„	40	80	40	
Muskel .	„	10	80	40	
Milz . . .	„	20[1])	20[1])	20[1])	

Auch das Meerschweinchen hat den größten Gehalt an Diastase im Pankreas; da mit einem Extrakt gearbeitet werden mußte, lassen sich diese Werte und ebenso die der Milz nicht gut mit denen der vorhergenannten Tiere vergleichen. Die Reihenfolge der andern Organe ist Leber, Niere und Muskel, resp. wenn man die Größenverhältnisse mit in Rechnung setzt, Muskel, Leber, Niere, Milz. Verglichen mit den andern Tabellen sind sämtliche Organe — abgesehen vom Pankreas und von der Milz — reicher an Diastase als die vom Hund und vom Menschen. Vor allem aber zeigt, worauf auch schon Wohlgemuth hingewiesen hat, das Blut des Meerschweinchens so hohe Diastasewerte, wie man sie kaum selbst beim Hunde antrifft.

Nachtrag bei der Korrektur. Während der Drucklegung der Arbeit werde ich von andrer Seite auf eine kürzlich erschienene Mitteilung von Schirokauer (Arch. f. Gynäkolog. 91, Heft 1) aufmerksam gemacht, aus der hervorgeht, daß das schwangere Meerschweinchen einen weit höheren Gehalt an Diastase in seinem Blute hat $\left(D^{38^0}_{24^h} = 729—1250\right)$ als das nichtträchtige, und daß auch die Leber jener Tiere reicher an Diastase ist. Für die Leberdiastase wurden Werte zwischen $D^{38^0}_{24^h} = 70{,}25$ und $D^{38^0}_{24^h} = 225{,}0$ gefunden. Bei den

von mir untersuchten 3 Tieren schwankt der Wert für die Leberdiastase zwischen $D_{24^h}^{38^0} = 80$ und 160. Zum mindesten wäre also nach Sch. die Leberdiastase für Tier Nr. II abnorm hoch. Gravidität hat aber bei diesem Tier bestimmt nicht vorgelegen.

Tabelle VI.

Organe vom Huhn.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III
Pankreas . . .	$D_{24^h}^{38^0}$	606720	606720	606720
Muskel	„	160	160	160
Milz	„	> 40	> 80	> 80
Blut	„	—	40	40
Niere	„	10	10	10
Leber	„	10	10	10

Die Werte für den Pankreaspreßsaft sind ganz enorm und wurden in sämtlichen 3 Fällen gleich hoch gefunden. Auch der Preßsaft des Muskels erreicht beim Huhn so hohe Werte, wie er bisher im Muskel nie beobachtet wurde. Milz, Blut, Niere und Leber zeigen etwa gleiche Werte wie die entsprechenden Organe des Kaninchens. Die Reihenfolge der Organe bezüglich ihres absoluten Diastasegehaltes wäre beim Huhn somit: Pankreas, Muskel, Leber, Niere, Milz.

Tabelle VII.

Organe vom Fisch.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D_{24^h}^{38^0}$	4720	4720	4720	[1]) Hier mußte wegen der Kleinheit des Organs wieder mit einem Extrakt gearbeitet werden
Milz . . .	„	—[1])	640[1])	640[1])	
Muskel .	„	80	80	80	
Leber . .	„	40	40	40	
Blut . . .	„	80	5	40	
Niere . .	„	20	20	20	

Auch beim Fisch besitzt das Pankreas den höchsten Diastasegehalt, desgleichen scheint die Milz große Mengen an Diastase zu enthalten, dann folgen Muskel, Leber und Niere. Das Blut enthält ungefähr die gleiche Menge an Diastase wie das des Kaninchens oder das des Huhnes. Die Reihenfolge der Organe wäre, abgesehen von der Milz, auch beim Fisch: Pankreas, Muskel, Leber, Niere.

Tabelle VIII.

Organe vom Frosch.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D_{24^h}^{38^0}$	160[1])	160[1])	320[1])	[1]) Das Pankreas der Frösche war so klein, daß nur mit Extrakten gearbeitet werden konnte
Blut . . .	„	160	160	160	
Leber . .	„	20	40	40	
Muskel .	„	10	5	10	
Milz . . .	„	Spur	Spur	Spur	
Niere . .	„	„	„	„	

Auffallend hoch ist der Diastasegehalt im Blut des Frosches. Auch von Pankreas kann man, wenn auch nur schätzungsweise sagen, daß es große Mengen an Diastase enthält. Leber und Muskel entsprechen ihrem Diastasegehalt nach etwa den Organen des Kaninchens. Von Milz und Nieren wurden zwar Extrakte hergestellt, aber es konnten nur Spuren von Diastase in ihnen nachgewiesen werden. Auch beim Frosch würde die Reihenfolge der Organe, wenn man die absoluten Diastasemengen berücksichtigt, die nämliche sein wie bei den andern Tieren: Pankreas, Muskeln, Leber, Niere.

Wenn wir nun noch einmal die Resultate in ihrer Gesamtheit überblicken, so hat sich feststellen lassen, daß den relativ höchsten Gehalt an Diastasen in ihren Organen aufzuweisen haben Meerschweinchen und Hund, dann folgen Huhn, Kaninchen, Katze, Fisch, Frosch und endlich der Mensch. Was die einzelnen Organe anbetrifft, so ergibt sich aus sämtlichen Tabellen, daß bei allen Tierarten die absoluten Diastasemengen am höchsten sind im Pankreas, dann folgen Muskeln, Leber, Nieren und Milz.

In den Kreis der Untersuchung hatte ich auch die Organe der Ratte gezogen, kam aber zu so schwankenden Ergebnissen, daß sich mir der Gedanke aufdrängte, es könnte zwischen dem Diastasegehalt der Organe und der Art der Ernährung irgendein Zusammenhang bestehen. Aus diesem Grunde schien es mir von Wichtigkeit, festzustellen, wie verschiedene Nahrungsmittel auf die Diastasemengen in den Organen der Ratte wirken. An Hunden und Kaninchen hatte zwar Wohlgemuth[1]) konstatiert, daß bezüglich der Diastasekonzentration des Blutes

[1]) Diese Zeitschr. 9, 20, 1908.

die Art der Nahrung ohne jeden Einfluß war. Das schloß aber noch keineswegs a priori aus, daß die Organe der Ratte hierin ein anderes Verhalten zeigen würden. Ich untersuchte nun 4 Serien von Ratten, die ich zu je 3 Stück in 4 verschiedenen Käfigen hielt. Die eine Serie wurde ausschließlich mit Speck, die zweite ausschließlich mit Hackfleisch und die dritte ausschließlich mit Brot und Hafer annähernd 1 Woche lang gefüttert. Bezüglich der vierten Serie ist zu bemerken, daß zunächst nur 2 Tiere mit Brot gefüttert wurden und später noch einmal 2 Ratten 3 Tage lang bei Brotnahrung gehalten wurden. Von den Tieren wurde gegen Ende der Fütterungsperiode eines durch Entbluten getötet und seine Organe in der gewohnten Weise, nachdem sie zuvor durch physiologische Kochsalzlösung von den letzten Blutresten befreit waren, weiter verarbeitet. Am nächsten Tage wurde das zweite und am 3. Tage das dritte Tier getötet und so bei allen Versuchsreihen verfahren. Auf weitere Einzelheiten näher einzugehen, dürfte sich erübrigen, da alles Weitere aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist.

Tabelle IX a.

Organe von der Ratte.

Fleisch-Ratte.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D_{24^h}^{38^0}$	9480[1])	7280[1])	2360[1])	[1]) Pankreas u. Milz waren bei sämtlichen Versuchstieren so klein, daß mit Extrakten gearbeitet werden mußte
Blut . . .	„	160	160	320	
Leber . .	„	80	80	80	
Niere . .	„	80	80	40	
Muskel .	„	20	20	20	
Milz . . .	„	10[1])	10[1])	5[1])	

Tabelle IX b.

Organe von der Ratte.

Speck-Ratte.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D_{24^h}^{38^0}$	640[1])	320[1])	1280[1])	[1]) Pankreas u. Milz waren bei sämtlichen Versuchstieren so klein, daß mit Extrakten gearbeitet werden mußte
Blut . . .	„	160	320	160	
Leber . .	„	160	80	160	
Niere . .	„	40	40	40	
Muskel .	„	20	5	20	
Milz . . .	„	10[1])	20[1])	5[1])	

Tabelle IX c.

Organe von der Ratte.

Brot- und Hafer-Ratte.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Besondere Bemerkungen
Pankreas .	$D^{38^0}_{24^h}$	18960[1])	18960[1])	18960[1])	[1]) Pankreas u. Milz waren bei sämtlichen Versuchstieren so klein, daß mit Extrakten gearbeitet werden mußte
Leber . .	„	160	160	320	
Blut . . .	„	160	160	320	
Muskel .	„	20	40	20	
Niere . .	„	20	40	20	
Milz . . .	„	20[1])	20[1])	20[1])	

Tabelle IX d.

Organe von der Ratte.

Brot-Ratte.

		Nr. I	Nr. II	Nr. III	Nr. IV	Besondere Bemerkungen
Pankreas	$D^{38^0}_{24^h}$	37920[1])	303360[1])	606720[1])	606720[1])	[1]) Pankreas u. Milz waren bei sämtlichen Versuchstieren so klein, daß mit Extrakten gearbeitet werden mußte
Blut . .	„	160	160	160	320	
Leber .	„	160	160	160	320	
Niere . .	„	80	80	80	80	
Muskel .	„	40	40	20	20	
Milz . .	„	20[1])	20[1])	20[1])	5[1])	

Aus allen Tabellen geht zunächst hervor, daß das Blut bezüglich seines Diastasegehaltes Schwankungen aufzuweisen hat, die sämtlich innerhalb der physiologischen Breite liegen; in keinem Falle, sei es, daß die Tiere mit Brot oder mit Speck oder mit Fleisch gefüttert waren, wurde eine Vermehrung der Diastase im Blut beobachtet. Ich kann also auch für die Ratte nur das bestätigen, was Wohlgemuth für den Hund und das Kaninchen behauptet hat, daß der tierische Organismus mit großer Zähigkeit daran festhält, die Beschaffenheit des Blutes bezüglich seiner Diastasekonzentration immer möglichst gleichmäßig zu erhalten. — Auch für die Leber, für Muskel, Niere und Milz haben sich in sämtlichen Versuchsreihen annähernd gleichmäßige Werte ergeben. Nur die Leber der Fleischratten scheint einen geringeren Gehalt an Diastase besessen zu haben. Es dürften aber noch weitere Untersuchungen über diesen Punkt am Platze sein, ehe man diesem Befund eine größere Bedeutung beimessen darf. Dagegen hat sich mit voller Sicherheit ergeben, daß

das Pankreas der Brot- und Hafer-Ratten, besonders aber der mit Brot allein gefütterten Ratten gegenüber der Fleisch- und vor allem der Speck-Ratte einen ganz enorm gesteigerten Wert an Diastase aufzuweisen hat. So übertreffen die Diastasewerte des Pankreas der Brot-Ratte die der Speck-Ratte um das 300 bis 500fache. Will man hierfür eine Erklärung geben, so dürfte man wohl nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß die großen Mengen an Stärke, die mit dem Brot in den Verdauungstractus des Tieres gelangten, die Pankreasdrüse in dem Sinne beeinflußt haben, daß dieselbe zur Bewältigung der großen Stärkemenge eine dementsprechend große Menge an Diastase produzierte. Wir hätten somit in diesem interessanten Befund einen weiteren Beleg für das von Pawlow inaugurierte Zweckmäßigkeitsprinzip der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen.

Über die Beziehungen zwischen dem Antitrypsingehalt des Blutes und dem des Urins.

Von

Goichi Hirata, Okayama.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der kgl. Universität Berlin.)

(Eingegangen am 19. Juni 1910.)

Die zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre über den Antitrypsingehalt des Blutes haben gezeigt, daß die anfänglichen Hoffnungen, die man in diagnostischer Hinsicht an diesen Punkt geknüpft hatte, verfrüht waren, und nur das eine positive Resultat zutage gefördert, daß überall da, wo gesteigerter Eiweißzerfall im Körper statt hat, auch der Antitrypsingehalt des Blutes vermehrt ist. Wenn wir von den Arbeiten absehen, die sich vorwiegend mit dem Antitrypsingehalt des menschlichen Serums beschäftigen, so ist in erster Reihe am Tier diese Frage einer experimentellen Prüfung unterzogen worden.

Zunächst sei hingewiesen auf die Arbeit von Fürst[1]), aus der deutlich hervorgeht, daß, wenn man Meerschweinchen hungern läßt und auf diese Weise für einen gesteigerten Eiweißzerfall sorgt, am Ende der Hungerperiode das Blut der Tiere einen wesentlich höheren Antitrypsingehalt besitzt als zu Beginn des Versuchs. Sodann hat Braunstein[2]) bei derselben Tierart nach Injektion von Phlorizin und von Phosphor einen vermehrten Antitrypsingehalt im Blut beobachtet. K. Meyer[3]) konnte zwar diesen Befund nicht bestätigen, fand dagegen bei hungernden Kaninchen nach Einspritzung und Verfütterung von Schilddrüsensubstanz eine erhebliche Steigerung des Antitrypsingehaltes. Worauf nun diese Steigerung der Antitrypsinmenge im Blut bei erhöhtem Eiweißzerfall beruht, ist noch nicht ganz klargestellt. Aus den Versuchen von Braun-

[1]) Fürst, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 2.

[2]) Braunstein, Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 13.

[3]) K. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 23.

stein[1]) scheint hervorzugehen, daß es die bei dem gesteigerten Zellzerfall frei werdenden, intracellulären proteolytischen Fermente sind, die die Antifermentbildung verursachen. Über den Antitrypsingehalt des Urins wurden ausgedehnte Untersuchungen von Bauer und Reich[2]), und zwar ausschließlich an menschlichen Urinen angestellt, die zu dem Resultate führten, daß nicht alle menschlichen Harne Antitrypsin enthalten. Den größten Gehalt an Antitrypsin im Harn fanden sie bei akuter und subakuter Nephritis, bei Tuberkulose und Amyloid der Niere und bei akuten Infektionskrankheiten. Sie beobachteten meist gleichzeitig Eiweiß im Urin, doch ging der antitryptische Index nicht mit dem Eiweißgehalt des Harns parallel. Während sie es für sehr wahrscheinlich halten, daß das Antitrypsin des Harns lipoider Natur ist, vertritt Doeblin[3]) die Anschauung, daß das Antitrypsin des Harns ebenso wie das Antitrypsin des Blutes an die Albuminfraktion gebunden ist.

Hiernach schien es mir wertvoll, festzustellen, ob zwischen dem Antitrypsin des Urins und des Blutes irgend welche Beziehungen bestehen, und zwar war nach den Befunden von Bauer und Reich, die speziell bei Nierenreizungen hohen Antitrypsinmengen im Urin begegneten, am allerersten von der Nephritis eine Beantwortung dieser Frage zu erwarten. Danach war der Gang der Untersuchung gegeben. Es mußte zunächst an normalen Tieren der Antitrypsingehalt des Blutes sowohl wie des Urins genau festgestellt und dann kontrolliert werden, wie unter dem Einfluß einer experimentell erzeugten Nephritis sich die Verhältnisse weiter gestalten. Als Versuchstiere wählte ich Kaninchen, weil es bei ihnen leicht gelingt, mit Hilfe einer Reihe von Giften Nierenentzündungen zu erzeugen.

Die Tiere wurden in einer Vorperiode 4 bis 6 Tage lang beobachtet und während dieser Zeit der Antitrypsingehalt im Harn sowohl wie im Blut genau bestimmt. Dann wurden die Tiere teils mit Sublimat, teils mit Urannitrat, teils mit Chromsäure vergiftet und nun wieder täglich Blut und Urin untersucht.

Was die Methode der Antitrypsinbestimmung anbetrifft, so ging ich nach dem Vorschlag von Herrn Dr. Wohlgemuth so vor, daß ich von einer 1%igen Trypsinstammlösung diejenige Menge Trypsin verwandte, die noch imstande war, 2 ccm der nach Fuld-Groß angegebenen 1‰igen Caseinlösung innerhalb

[1]) Braunstein, Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 11.
[2]) Bauer und Reich, Med. Klinik 1909, Nr. 46; ibid. 1910, Nr. 2.
[3]) Doeblin, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 4, 224, 1909.

$^1/_2$ Stunde im Wasserbad von 38° glatt zu verdauen. Dieses Quantum Trypsin wurde einer Reihe von Reagensgläsern zugesetzt und nun absteigenden Mengen des auf das 500 bis 1000fache verdünnten Serums zugefügt. Was den Urin anbetrifft, so wurde er vor dem Gebrauch stets, soweit es notwendig war, mit $^n/_{10}$-HCl genau neutralisiert. Dann blieben, nachdem die Volumina mit physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen waren, die Gläschen $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen, wurden erst nach Ablauf der Frist mit je 2,0 ccm der Caseinlösung beschickt und dann in ein Wasserbad von 38° auf 30 Minuten übertragen. Alsdann wurden sie herausgenommen, sofort abgekühlt und der Versuch in der üblichen Weise zu Ende geführt. Die Berechnung des Antitrypsingehaltes geschah so, daß diejenige Menge Serum, die imstande war, die Trypsinmenge in ihrer Wirkung zu hemmen, als Antitrypsineinheit (Anti-T.) gesetzt wurde und nun berechnet wurde, wieviel Antitrypsineinheiten im Serum resp. Urin enthalten waren.

Ich teile nun zunächst die Versuche mit Uranvergiftung mit.

A. Versuche mit Uranvergiftung.

Tabelle Ia.

Urannephritis.

Nr. 1. Kaninchen, Gewicht 1890 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $^{18°\,(38°)}_{30'\,(30')}$	400,0	Anti-T. $^{18°\,(38°)}_{30'\,(30')}$	36,0	Vorperiode
2.		„	400,0	„	12,5	
3.		„	400,0	„	6,6	
4.		„	400,0	„	45,0	
5.		„	400,0	„	32,0	
6.		„	400,0	„	20,0	Unmittelbar vor der Injektion
6.						Injektion von 0,01 g Urannitrat pro kg
6.	2	„	400,0	„	100,0	
6.	4	„	400,0	„	141,2	
7.	20	„	400,0	„	178,2	
7.	22	„	400,0	„	144,9	
7.	24	„	400,0	„	144,9	
8.	48	„	1250,0	„	141,2	
9.	72	„	1250,0	„	—	Nach Eintritt des Todes wurde das Blut aus dem Herzen entnommen

Tabelle Ib.

Urannephritis.

Nr. 2. Kaninchen, Gewicht 1400 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	400,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	15,8	Vorperiode
2.		„	400,0	„	17,4	
3.		„	400,0	„	25,6	
4.		„	400,0	„	43,4	Unmittelbar vor der Injektion
4.						Injektion von 0,01 g Urannitrat pro kg
4.	2	„	400,0	„	62,5	
4.	4	„	625,0	„	128,2	
6.	20	„	625,0	„	256,4	
6.	22	„	625,0	„	141,2	
6.	24	„	625,0	„	141,2	
7.	48	„	1250,0	„	62,5	
8.	72	„	1250,0	„	136,9	

Tabelle Ic.

Urannephritis.

Nr. 3. Kaninchen, Gewicht 1720 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	400,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	7,6	Vorperiode
2.		„	400,0	„	7,6	
3.		„	400,0	„	22,2	
4.		„	400,0	„	13,5	
5.		„	400,0	„	18,1	
6.		„	625,0	„	11,2	Unmittelbar vor der Injektion
6.						Injektion von 0,01 g Urannitrat pro kg
6.	2	„	625,0	„	62,5	
6.	4	„	1000,0	„	52,5	
7.	20	„	625,0	„	83,3	
7.	22	„	625,0	„	172,4	
7.	24	„	1000,0	„	144,9	
8.	48	„	1000,0	„	322,5	
9.	72	„	1000,0	„	500,0	

Aus den 3 Tabellen geht zunächst hervor, daß der Antitrypsingehalt des Blutes in der Vorperiode bei sämtlichen Tieren absolut gleich ist, daß dagegen der Antitrypsingehalt des Urins beträchtlichen Schwankungen unterliegt. Das Verhältnis zwischen dem Antitrypsingehalt des Blutes und dem des Urins schwankt ungefähr zwischen 1 : 10 bis 65. Unmittelbar nach der Injektion des Urans nimmt der Antitrypsingehalt des Urins beträchtlich zu,

während der des Blutes anfänglich unverändert bleibt und erst 24 bis 48 Stunden später erheblich zunimmt. Doch ist diese Steigerung im Vergleich zu der im Urin wesentlich geringer. Am Ende des Versuchs hat sich das Verhältnis des Antitrypsingehaltes des Urins zu dem des Blutes nicht wesentlich geändert.

B. Versuche mit Chromsäurevergiftung.

Tabelle IIa.

Chromsäurenephritis.

Nr. 4. Kaninchen, Gewicht 3050 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	400,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	15,8	Vorperiode
2.		„	400,0	„	15,8	
3.		„	400,0	„	27,7	
4.		„	400,0	„	62,5	
5.		„	400,0	„	28,5	
6.		„	400,0	„	15,8	Unmittelbar vor der Injektion
6.						Injektion von 0,02 g pro kg
6.	2	„	625,0	„	71,4	
6.	4	„	625,0	„	62,5	
7.	20	„	625,0	„	62,5	
7.	22	„	625,0	„	62,5	
7.	24	„	625,0	„	62,5	
8.	48	„	1000,0	„	—	Nach dem Tode wurde das Blut aus dem Herzen entnommen

Tabelle IIb.

Chromsäurenephritis.

Nr. 5. Kaninchen, Gewicht 2200 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	400,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	3,8	Vorperiode
2.		„	400,0	„	11,7	
3.		„	400,0	„	22,2	
4.		„	400,0	„	62,5	
5.		„	400,0	„	43,4	
6.		„	400,0	„	22,2	Unmittelbar vor der Injektion
6.						Injektion von 0,02 g pro kg
6.	2	„	625,0	„	22,2	
6.	4	„	625,0	„	34,4	
7.	20	„	400,0	„	62,5	
7.	22	„	400,0	„	34,4	
7.	24	„	400,0	„	34,4	
8.	48	„	1000,0	„	—	

Tabelle IIc.
Chromsäurenephritis.
Nr. 6. Kaninchen, Gewicht 1900 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	250,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	10,0	Vorperiode
2.		„	250,0	„	10,0	
3.		„	400,0	„	32,2	
4.		„	400,0	„	40,0	
5.		„	400,0	„	9,9	
6.		„	400,0	„	10,0	Unmittelbar vor der Injektion
6.						Injektion von 0,02 g pro kg
6.	2	„	1000,0	„	62,5	
6.	4	„	625,0	„	62,5	
7.	20	„	625,0	„	62,5	
7.	22	„	625,0	„	62,5	
7.	24	„	625,0	„	62,5	
8.	48	„	1000,0	„	—	

Auch diese 3 Kaninchen zeigten während der Vorperiode in ihrem Blut fast ständig den gleichen Antitrypsingehalt, während der des Harns die gleichen Schwankungen aufwies wie in der vorigen Versuchsreihe. Die Injektion von Chromsäure hatte den entgegengesetzten Effekt wie die des Urannitrates; während sich im Harn an den Werten nichts oder so gut wie nichts änderte, war schon kurze Zeit nach der Vergiftung mit Chrom der Antitrypsingehalt des Blutes gesteigert.

C. Versuche mit Sublimatvergiftung.

Tabelle IIIa.
Spontane Albuminurie und Sublimatnephritis.
Nr. 7. Kaninchen, Gewicht 1600 g.

Tag	Nach Std.	Blut		Urin		Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	250,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$	5,8	Normal
2.		„	156,2	„	3,8	
3.		„	250,0	„	9,9	
4.		„	400,0	„	11,9	
5.		„	625,0	„	62,5	Spontane Albuminurie.
6.		„	1000,0	„	217,3	
7.		„	1250,0	„	106,3	
8.		„	1250,0	„	128,2	
9.		„	1250,0	„	256,9	
9.						Injektion von 0,01 g Sublimat pro kg
9.	4	„	1250,0	„	128,2	
10.	24	„	3125,0	„	256,9	
11.	48	„	3125,0	„	256,9	
12.	72	„	2000,0	„	128,2	
13.	96	„	3125,0	„	62,5	
14.	120	„	1250,0	„	32,2	

Tabelle IIIb.

Spontane Albuminurie und Sublimatnephritis.
Nr. 8. Kaninchen, Gewicht 2100 g.

Tag	Nach Std.	Blut	Urin	Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$ 156,2	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$ 76,9 ?	Normal
2.		„ 156,2	„ 6,9	
3.		„ 250,2	„ 13,3	
4.		„ 250,0	„ 11,9	
5.		„ 625,0	„ 62,5	Spontane Albuminurie. Ohne Zylinder
6.		„ 1000,0	„ 62,5	
7.		„ 1250,0	„ 11,4	
8.		„ 1250,0	„ 62,5	
9.		„ 1250,0	„ 128,2	
9.				Injektion von 0,01 g Sublimat pro kg
9.	4	„ 769,2	„ 62,5	
10.	24	„ 3125,0	„ 128,2	
11.	48	„ 3125,0	„ 256,9	
12.	72	„ 2000,0	„ 62,5	
13.	96	„ 3125,0	„ 32,2	

Tabelle IIIc.

Spontane Albuminurie und Sublimatnephritis.
Nr. 9. Kaninchen, Gewicht 1700 g.

Tag	Nach Std.	Blut	Urin	Besondere Bemerkungen
1.		Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$ 250,0	Anti-T. $\frac{18°(38°)}{30'(30')}$ 32,2	Normal
2.		„ 156,2	„ 19,2	
3.		„ 250,0	„ 20,0	
4.		„ 250,0	„ 19,2	
5.		„ 250,0	„ 83,3	Spontane Albuminurie. Ohne Zylinder
6.		„ 1000,0	„ 62,5	
7.		„ 1250,0	„ 102,0	
8.		„ 1250,0	„ 62,5	
9.		„ 1250,0	„ 62,5	
9.				Injektion von 0,01 g Sublimat pro kg
9.	4	„ 2000,0	„ 62,5	
10.	24	„ 3125,0	„ 128,5	
11.	48	„ 3125,0	„ 128,5	
12.	72	„ 2000,0	„ 128,5	
13.	96	„ 3125,0	„ 128,5	

Aus dieser Versuchsreihe ist zunächst ersichtlich, daß sämtliche Kaninchen schon vor Beginn des Versuchs erhebliche Schwankungen in ihrem Antitrypsingehalt des Blutes zeigen, besonders das Kaninchen in Versuch IIIa. Dieses Tier hat auch einen besonders geringen Gehalt an Antitrypsin in seinem Urin. Bei sämtlichen 3 Tieren bildet sich dann ganz plötzlich,

ohne daß die Ursache ermittelt werden konnte, eine Albuminurie heraus, die sofort ein Steigen des Antitrypsingehaltes des Urins sowohl wie des Blutes zur Folge hatte und die Werte im Blut und im Urin um das 5fache steigerte. Die darauf folgende Injektion von Sublimat führte dann noch zu einer weiteren Steigerung der Antitrypsinwerte besonders im Blut, die die anfänglichen in der Vorperiode festgestellten nunmehr um das 10 bis 15fache übersteigen.

Wenn wir die in den 3 Versuchsreihen gewonnenen Werte noch einmal überblicken, so hat sich in allen 3 Fällen ergeben, daß unter dem Einfluß der experimentellen Nephritis beim Kaninchen, sobald dieselbe einen größeren Umfang angenommen hat, der Antitrypsingehalt des Blutes sowohl wie der des Urins erheblich gegen die Norm gesteigert ist. Diese Steigerung tritt aber nicht gleichzeitig im Blut und im Urin auf, sondern bei der Uranvergiftung erst im Urin, dann im Blut, bei der Chromsäurevergiftung erst im Blut und dann im Urin, und nur bei der spontanen Albuminurie und der Sublimatnephritis ist die Vermehrung des Antitrypsins gleichzeitig im Blut und im Urin zu konstatieren. Als weiteres Ergebnis dieser Untersuchungen sei hervorgehoben, daß mit diesen Versuchen der experimentelle Beweis erbracht ist, daß es außer durch Verabfolgung von Schilddrüsenpräparaten (K. Meyer) auch durch Zufuhr von Nephritis erzeugenden Giften beim Kaninchen gelingt, den Antitrypsingehalt des Blutes ganz gewaltig zu steigern. Ob auch für diese Fälle die von Braunstein gegebene Erklärung, daß nämlich „die bei dem gesteigerten Zellzerfall frei werdenden intracellulären proteolytischen Fermente" die Antifermentbildung verursachen, scheint mir doch nach dem, was wir von der Wirkung der 3 verwandten Gifte wissen, sehr fraglich.

Über den Einfluß gesteigerter Körpertemperatur auf das Verhalten der Blutgase.

Ein Beitrag zur Genese der Bergkrankheit.

Von

W. Caspari und A. Loewy.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin.)

(Eingegangen am 20. Juni 1910.)

Mit 3 Figuren im Text.

Im Jahre 1906 nahm der eine von uns (C.) an der Durigschen Monte-Rosa-Expedition teil. Am Tage nach dem Eintreffen in Alagna stieg er völlig untrainiert nach dem Col d'Olen auf, d. h. von ca. 1100 auf 2900 m Höhe. Dieser Weg führt durch eine breite Schlucht, die, vollständig unbewaldet, vormittags stets der prallsten Sonne ausgesetzt ist. Es ist daher üblich, den Marsch so früh anzutreten, daß man den Weg durch die Schlucht zurücklegt, bevor die Sonne ihre volle Kraft entfalten kann. Aus äußeren Umständen war dies damals nicht möglich. Die Folge war, daß die Ankunft in Col d'Olen erst um 12 Uhr mittags erfolgte. Dabei machten sich unterwegs in Höhe von etwa 2600 m Beschwerden geltend, die subjektiv ganz denen der Bergkrankheit glichen, die der Betreffende fünf Jahre zuvor in einer Höhe von 4600 m in ausgeprägtem Maße an sich selbst kennen gelernt hatte. Nach der Ankunft nahmen die Beschwerden allmählich ab, doch waren sie noch nicht völlig gewichen, als um 4 Uhr nachmittags der Rückweg zu Tal angetreten wurde. Trotzdem der Abstieg langsam ausgeführt wurde und erst bei sinkender Sonne die Ankunft in Alagna erfolgte, wurde doch nach der Rückkehr eine Körpertemperatur

von 38,6° in ano gemessen. Es ist kein Zweifel, daß während des Aufstiegs unter den viel ungünstigeren Bedingungen die Körpertemperatur noch wesentlich höher angestiegen gewesen sein muß. Dafür spricht auch das subjektive Befinden, das Gefühl starker Überhitzung, das während des Abstiegs durchaus nicht wahrgenommen wurde. Es ist wahrscheinlich, daß die Körpertemperatur während des Aufstiegs 39° wesentlich überstiegen hat, denn die Erfahrungen bei der Hochgebirgsexpedition vom Jahre 1901, an der wir uns beteiligten, zeigten, daß selbst Körpertemperaturen von über 39° ohne derartige peinliche Hitzempfindung ertragen wurden.[1])

Im Gegensatze hierzu blieb dieselbe Person bei einem 14 Tage später erfolgten Aufstieg auf den Gipfel des Monte Rosa — 4560 m — sowohl während des Aufstiegs, wie bei dem fast 24stündigen Aufenthalte auf der Spitze vollständig von der Bergkrankheit verschont. Obgleich es wohl zweifellos ist, daß die Gewöhnung an den Gebirgsaufenthalt und das inzwischen eingetretene Training der Muskulatur und des Herzens von großer Bedeutung für die Erklärung der Differenz sind, schien es uns doch nicht annehmbar, daß diese beiden Faktoren allein hierzu genügten. Es konnte vielmehr daneben nach unserer Ansicht die Steigerung der Körpertemperatur beim Marsche zum Col d'Olen mit in Betracht kommen. Auf der Capanna Regina Margherita sprach nichts im Befinden für eine derartige Steigerung der Körpertemperatur. Die Abendtemperatur, in ano gemessen, betrug nur 37°.

Eine Einwirkung der erhöhten Körperwärme auf das Eintreten der Bergkrankheit erschien verständlich. Nach der Anschauung der meisten Forscher wird die Bergkrankheit in erster Linie durch Sauerstoffmangel bedingt. Dieser Sauerstoffmangel hängt ab von der mit der Höhe, bezüglich mit der Luftverdünnung abnehmenden Sättigung des Oxyhämoglobins mit Sauerstoff. Die Sauerstoffaufnahme des Hämoglobins ist aber bei gleichem Druck abhängig von der Temperatur, wie bereits Paul Bert[2]) nachgewiesen hat. Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins nimmt mit steigender Temperatur ab. Gerade für die

[1]) Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen. Berlin 1904.

[2]) Paul Bert, La pression barometrique. Paris 1878, S. 691.

bei dieser Frage wesentlichen Temperaturdifferenzen zwischen 37° und 42° lagen aber zurzeit keine Untersuchungen vor, und so unterahmen wir es, angeregt durch die vorstehend mitgeteilte Vorstellung, diese Lücke auszufüllen.

Wir stellten demnach eine größere Reihe von Versuchen an, in denen wir in vitro Hundeblut bei verschiedenen Sauerstoffspannungen auf seinen Sauerstoffgehalt untersuchten, und zwar einerseits bei einer Temperatur von 37°, andererseits von 42°. Aus äußeren Gründen mußten wir diese Versuche längere Zeit unterbrechen und publizierten sie nicht, weil wir sie nach manchen Richtungen hin noch vervollständigen wollten.

Unterdessen ist jedoch eine den gleichen Gegenstand betreffende Untersuchung von Barcroft und King[1]) erschienen, die zu den gleichen Ergebnissen geführt hat, die wir gefunden hatten. Wir sehen uns deshalb veranlaßt, die Mitteilung unserer Versuche nicht weiter zu verzögern.

Die von uns benutzte Methode war die von Loewy und Zuntz[2]) früher angegebene. Frisches Hundeblut wurde in der dort beschriebenen Schüttelbirne mit einem Gasgemische geschüttelt, dessen Sauerstoffgehalt in den einzelnen Versuchen variiert wurde. Um die Verhältnisse den im Körper herrschenden anzunähern, wurde dem Gasgemisch zugleich auch Kohlensäure zugesetzt, mit Spannungen, wie sie ähnlich im Körper vorkommen. Die Kohlensäurespannungen wurden variiert, um ihren Einfluß auf die Sauerstoffaufnahme bei der niederen und höheren Temperatur zu ermitteln.

Nachdem so lange geschüttelt war, daß Spannungsausgleich eingetreten war, wurde eine gemessene Menge des Blutes entgast und Sauerstoff, Kohlensäure und Stickstoff im Loewyschen Analysenapparat bestimmt. Ebenso wurde ein Teil des Schüttelgases aufgefangen und gleichfalls auf die genannten Gase untersucht. Letztere bildeten das Maß für die Spannung der gewonnenen Blutgase.

Wir haben im ganzen sechs Versuchsreihen angestellt, von denen jedoch die eine unberücksichtigt bleiben muß, da die zur Deutung der gewonnenen Werte notwendige Schüttelung mit atmosphärischer Luft nicht ausgeführt werden konnte. Es bleiben also fünf brauchbare Versuchsreihen. Auch in diesen finden sich einzelne Werte, bei denen augenscheinlich Versuchsfehler vorliegen, so daß wir von ihrer Verwendung absehen. Dennoch geben wir sie, um unser gesamtes Zahlenmaterial vor-

---

[1]) Barcroft und King, Journ. of Physiol. 39, 1909.

[2]) Loewy und Zuntz, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1904.

zulegen, in den folgenden Tabellen wieder, haben sie jedoch mit einem Fragezeichen versehen.

In der Tabelle I sind die absoluten Werte für Sauerstoff- und Kohlensäuregehalt im Blute und im Schüttelgase bei den Temperaturen von 37° und 42° zusammengestellt.

Tabelle I.

Nr. d. Vers.	Sauerstoffgehalt des Blutes Vol.-%	Sauerstoffgehalt des Schüttelgases %	Kohlensäuregehalt des Blutes Vol -%	Kohlensäuregehalt des Schüttelgases %	Temperatur Grad C	Bemerkungen
1	21,65	20,21	26,75	1,61 (?)	37	Die Werte für die nicht ausgefüllten Rubriken sind verloren.
	22,42	atmosph. Luft	—	—	42	
	—	—	—	—	37	
	15,93	3,91	19,43	0,77	42	
	14,73	2,47	14,30	1,67	37	
	9,58	3,00	20,77	1,23	42	
2	13,81	20,03	15,54	0,83	37	
	13,47	20,38	15,82	0,85	42	
	5,57	4,14	31,59	3,42	37	
	3,94	3,97	28,98	5,89	42	
3	18,83	19,58	37,27	4,65	37	
	18,67	18,68	32,60	5,03	42	
	13,74	9,21	39,76	4,97	37	
	14,51	9,55	35,24	5,24	42	
	5,65	2,98	38,74	4,98	37	
	5,72	3,68	31,11	4,29	42	
4	13,38	19,33	42,42	6,88	37	
	12,97	19,87	42,86	7,78	42	
	12,87	8,69	37,02	5,28	37	
	10,73	9,00	36,39	5,40	42	
	3,02	2,68	38,54	4,80	37	
	—	—	42,27	4,38 (?)	42	
5	18,18	18,62	46,70	4,99	37	
	17,00	18,31	41,83	5,95	42	
	14,68	9,67	43,12	4,21	37	
	13,62	9,26	39,65	4,27	42	
	13,12	6,37	46,80	4,59	37	
	12,66	7,02	45,26	5,40	42	

Die zweite Tabelle enthält die prozentische Sättigung des Blutes mit Sauerstoff bei den verschiedenen Sauerstoffspannungen, wenn der Sauerstoffgehalt des Blutes beim Schütteln mit atmosphärischer Luft und bei 37° gleich 100 gesetzt wird. Dabei sind die Sauerstoffwerte, die ja bei verschiedenem Kohlensäuredruck gewonnen sind, umgerechnet auf einen Kohlensäuredruck von 30 mm Quecksilber auf Grund der Bohrschen[1]) An-

[1]) Bohr, Nagels Handb. d. Physiol. 1, 92.

gaben. Wir wählten diesen Kohlensäuredruck, weil er dem bei ausgiebiger Lungenlüftung in der Norm in den Arterien herrschenden entspricht.

Tabelle II.

Prozentische Sauerstoffsättigung des Blutes, berechnet für eine CO_2-Spannung von 30 mm Hg.

Nr. d. Vers.	O_2-Spannung mm Hg	Prozentische O_2-Sättigung des Blutes	Temperatur Grad C
1	143,7	100	37
	143,0	103,6 (?)	42
	17,57	48	37
	21,36	20	42
2	142,4	100	37
	140,0	97,57	42
	29,43	37,37	37
	28,21	35,51	42
3	139,2	100	37
	132,8	99,1	42
	65,47	74,09	37
	67,90	78,05	42
	21,17	34,47	37
	26,20	30,40	42
4	137,4	100	37
	141,3	96,94	42
	61,78	96,71	37
	64,01	81,21	42
	19,06	25,61	37
5	132,4	100	37
	130,2	93,51	42
	68,77	80,75	37
	66,00	74,92	42
	45,27	72,17	37
	49,93	72,64	42

Noch anschaulicher als aus den Tabellen ergeben sich die Resultate aus den folgenden Kurventafeln, bei deren erster die einzelnen Werte für die Dissoziationsspannung des Sauerstoffhämoglobins im Blute unter der Voraussetzung einer Kohlensäurespannung von 30 mm angegeben sind. In der zweiten sind die Werte zu je einer Kurve für 37° und 42° zusammengefaßt. In dieser Kurve sind die Wirkungen der in den einzelnen Versuchen wechselnden Spannungen des Schüttelgases ebenso wie die des individuellen Verhaltens des Blutes ausgeglichen.

Betrachten wir das Ergebnis, so stellt sich heraus, daß (die Tabelle zeigt nur zwei aus der Reihe fallende Werte) die Sauerstoffsättigung des Blutes bei 42° stets eine geringere ist

als bei 37°, und zwar ist der Unterschied in der Sättigung bei hoher Sauerstoffspannung am geringsten und wächst mit großer Regelmäßigkeit bei Abnahme der Sauerstoffspannung. Es ergibt sich daraus, daß, je geringer die Sauerstoffspannung der Atmosphäre ist, um so mehr die Abnahme der Sauerstoffsättigung bei höherer Temperatur ins Gewicht fällt.

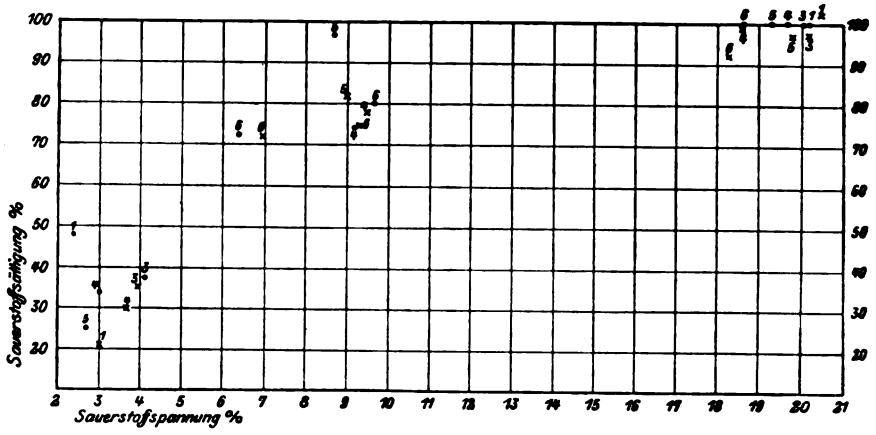


Fig. 1. Prozentische Sauerstoffsättigung des Blutes bei 37° (.) und bei 42° (×). Korrigiert für eine Kohlensäurespannung von 30 mm. Sauerstoffsättigung bei 37° gegenüber Luft = 100 gesetzt.

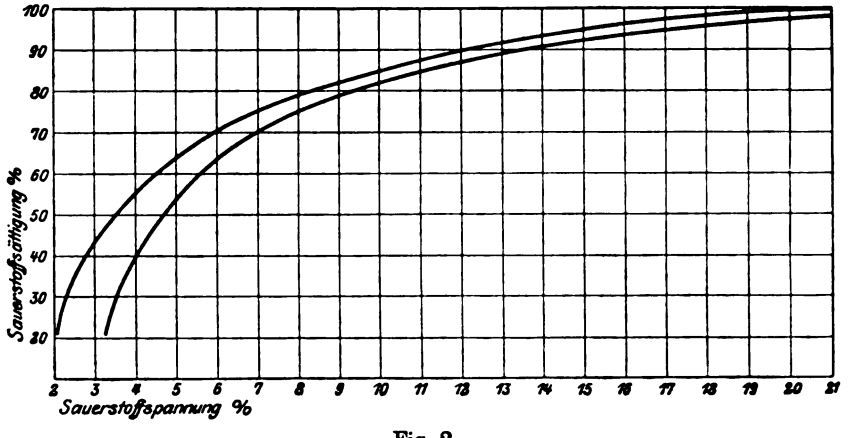


Fig. 2.

Barcroft und King, deren Resultate sich im allgemeinen mit den unseren decken, erörtern dieses Ergebnis nach zwei Richtungen: einmal in Hinsicht auf die Muskelarbeit, sodann

für das Fieber. Sie beziehen sich nur auf den unter vollem Atmosphärendruck lebenden Organismus und kommen dabei zu der Anschauung, daß das von ihnen gleich uns gefundene Verhalten für die Bedingungen der Muskelarbeit durchaus zweckmäßig sei. Das ist richtig, wenn die in den Lungenalveolen herrschende Sauerstoffspannung hoch ist. Dann ist nämlich der Unterschied in der Sättigung des Lungenblutes mit Sauerstoff bei den verschiedenen Temperaturen ein geringer, in den Capillaren jedoch ist bei der in ihnen herrschenden niedrigen Sauerstoffspannung die Abnahme der Sauerstoffsättigung mit steigender Temperatur erheblich. Durch diesen Gegensatz der Sättigung wird dem arbeitenden Muskel die Versorgung mit Sauerstoff bei der höheren Temperatur erleichtert, wie eine einfache Überlegung ergibt.

Anders liegen jedoch die Dinge beim Aufenthalt im Höhenklima. Hier sättigt sich das Blut schon in den Lungenalveolen erheblich weniger mit Sauerstoff, wenn die Körpertemperatur gesteigert ist. Unsere Kurven weichen bei einer alveolaren Sauerstoffspannung, wie sie im Mittel in denjenigen Höhen, in denen die Bergkrankheit aufzutreten pflegt, herrscht, schon beträchtlich auseinander. Unter diesen Verhältnissen muß die von Barcroft und King hervorgehobene günstige Wirkung der erhöhten Dissoziationsspannung des Sauerstoffs im Blut auf die arbeitende Muskulatur eingeschränkt werden, weil das Blut an sich schon sauerstoffärmer dem Muskel zugeführt wird. Zudem geht ja die Muskelarbeit im Hochgebirge mit einem höheren Stoffverbrauch einher als in der Tiefe. Dazu kommt, daß bei dem stärkeren Zustrom des Blutes zu der arbeitenden Muskulatur die nicht arbeitenden Organe, speziell das Gehirn, um so mehr unter dem mangelnden Sauerstoffgehalte des gesamten Blutes leiden müssen. Dieser Nachteil wird allerdings häufig völlig ausgeglichen durch die bei Muskelarbeit stets gesteigerte Geschwindigkeit des Blutumlaufs, sei es nur infolge erhöhter Pulszahl, sei es zugleich infolge von Blutdrucksteigerung. Wenn Durig[1]) auf die bekannte Tatsache hinweist, daß die Bergkrankheit am leichtesten im Bett eintritt, so ist dies wohl

[1]) Durig, Ergebnisse der Monte-Rosa-Expedition 1906. Erhaltungsumsatz, S. 62. Verhandl. d. Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, 1910.

zu erklären durch die verlangsamte Zirkulation bei der Bettruhe, wobei die fast immer gesteigerte Körpertemperatur als unterstützendes Moment in Betracht kommt.

Ist die Körpertemperatur nicht durch Muskelarbeit, sondern durch fieberhafte oder andere Prozesse gesteigert, so fallen die Änderungen der Blutverteilung, wie sie die Muskelarbeit bewirkt, fort, und es kommen in einfacherer Weise die Wirkungen der erhöhten Temperatur im Körper zur Geltung, d. h. beim Aufenthalt im Tieflande leichtere Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff bei nicht wesentlich verminderter Sauerstoffaufnahme in den Lungen; beim Aufenthalte in der Höhe ist dagegen die Sauerstoffaufnahme in den Lungen geringer als bei normaler Körpertemperatur. Allerdings ist zu beachten, daß ähnlich wie bei der Muskelarbeit auch im Fieber die verstärkte Atmung und Herztätigkeit im Sinne einer Kompensation wirkt dadurch, daß es zu Steigerung der Sauerstoffspannung in den Lungen und zu geringerer relativer Sauerstoffausnutzung in den Geweben kommt.

Die vorstehenden Betrachtungen, die lediglich das Verhalten der Sauerstoffspannung berücksichtigen, scheinen die eingangs mitgeteilte Auffassung über die Wirkung erhöhter Körpertemperatur als förderndes Moment für das Auftreten der Bergkrankheit zu stützen. Bei näherem Zusehen liegen jedoch die Verhältnisse viel komplizierter. Das hat seinen Grund darin, daß auch die Dissoziationsbedingungen der Kohlensäure im Blute sich mit der Steigerung der Temperatur nicht unwesentlich ändern.

Die Versuche, die wir hierüber ausgeführt haben, sind in Tabelle I mit enthalten und auf der Tafel III wiedergegeben.

Sie zeigen, daß ebenso wie die Sauerstoffbindung auch die Bindung der Kohlensäure bei gleicher Spannung mit steigender Temperatur abnimmt, d. h. daß die Dissoziationsspannung der Kohlensäureverbindungen steigt. Allerdings müssen die quantitativen Verhältnisse wechseln, was angesichts der komplizierten Bindung, in der sich die Kohlensäure im Blute befindet, sowie bei den individuell schwankenden Alkalescenzverhältnissen des Blutes nicht auffallen kann. Durch diese Momente dürfte es sich auch erklären, daß die Dissoziationskurve der Blutkohlensäure in unseren Versuchen von den Befunden von Bohr, Jaquet und Nagel etwas abweicht.

Die Folgen der bei der höheren Temperatur erhöhten Kohlensäurespannung müssen einerseits mit Bezug auf den Kohlensäurewechsel, andererseits in ihrer Wirkung auf die Sauerstoffversorgung des Körpers betrachtet werden.

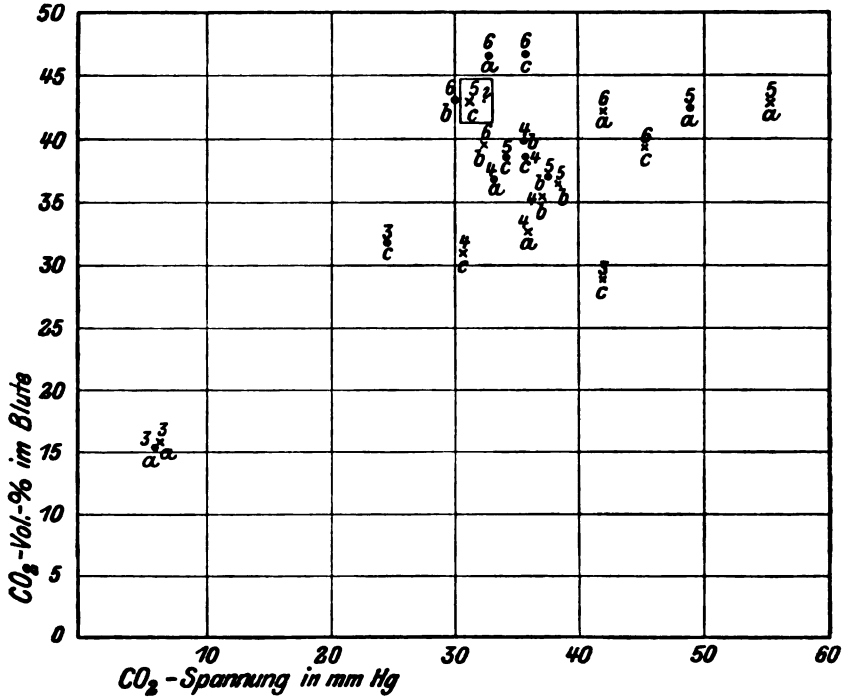


Fig. 3. Prozentische Kohlendioxydsättigung des Blutes. × = bei 42°; • = bei 37°. — *a* = bei Schüttelung mit atmosph. Luft; *b* = Schüttelung mit 7 bis 10% O_2; *c* = Schüttelung mit 4 bis 7% O_2.

Steigt die Dissoziationsspannung der Kohlensäure im Körper und speziell im Blute, so wird als erster Effekt eine starke Reizung des Atemzentrums erfolgen, damit eine gesteigerte Atmungstätigkeit und als deren Folge eine stärkere Ausfuhr der Kohlensäure durch die Lunge. Die gesteigerte Atmungstätigkeit hat also den Effekt, daß die Kohlensäurespannung in den Lungen und damit im arteriellen Gefäßsystem herabgesetzt wird. Da aber die Kohlensäurespannung in den Capillaren und im venösen System abnorm hoch liegt, resultiert eine gegen die Norm gesteigerte Differenz zwischen der Kohlensäurespannung des arteriellen und des venösen Systems.

Komplizierter gestalten sich die Verhältnisse, wenn bei gesteigerter Körpertemperatur zugleich Verminderung des Luftdrucks besteht, besonders dann, wenn diese bereits zu Sauerstoffmangel geführt hat. Der Sauerstoffmangel bewirkt das Auftreten saurer intermediärer Stoffwechselprodukte, d. h. er schafft Zustände, ähnlich denen im protrahierten Hunger, sowie bei Säurevergiftung infolge gewisser Stoffwechselanomalien. Diese Acidosis bewirkt eine Abnahme des Kohlensäuregehaltes des Blutes bei Zunahme der Kohlensäurespannung. Durch die Acidosis sinkt andererseits die Kohlensäurebildung in den Geweben, denn bei gleichbleibendem Zerfall wird weniger Substanz bis zu den Endprodukten der Oxydation verbrannt. Dementsprechend muß die in das Capillar- und Venensystem übergehende Kohlensäuremenge relativ verringert werden. Bis zu welchem Grade dies der Fall ist, hängt natürlich von der Intensität der Acidosis ab.

Daß diese Verminderung nicht unbeträchtliche Werte erreichen kann, derart, daß sie sich in einem Sinken des respiratorischen Quotienten bemerkbar macht, geht schon aus älteren Versuchen am hungernden Menschen[1]) hervor, wie auch aus den neueren Versuchen von Grafe[2]). Letzterer speziell betont den Zusammenhang zwischen dem Sinken des respiratorischen Quotienten und der Ausscheidung intermediärer Stoffwechselprodukte im Harn.

Wenn also auch in manchen Fällen die Änderungen der Kohlensäurebildung von Bedeutung sein werden, so glauben wir doch, daß sie für die Verhältnisse, die wir hier im Auge haben, eine geringere Rolle spielen, als die Änderungen der Kohlensäurebindung im Blute, der Abgabe der Kohlensäure seitens der Gewebe und ihrer Ausscheidung in der Lunge.

Sehen wir also zunächst von der Beschränkung der Kohlensäurebildung ab, so führt der verminderte Luftdruck zu Zuständen des Kohlensäurewechsels, die ganz analog sind den

---

[1]) C. Lehmann, Fr. Müller, J. Munk, H. Senator, N. Zuntz, Untersuchungen an zwei hungernden Menschen. Virchows Archiv 131, Supplementband.

[2]) Grafe, Beiträge zur Kenntnis des Stoffwechsels im protrahierten Hungerzustande. Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, Heft 1, S. 21.

Veränderungen, die die Steigerung der Körpertemperatur an sich bedingt. Auch unter vermindertem Luftdruck steigt die Kohlensäurespannung im Blute infolge der Acidosis, es ist also auch die Kohlensäurespannung im Capillar- und Venensystem gesteigert. Infolgedessen muß sie auch in den Geweben gesteigert sein, um die Abgabe der gebildeten Kohlensäure an das Blut zu ermöglichen. Daraus resultiert wiederum eine Steigerung der Atmung mit einer verstärkten Kohlensäureabgabe in den Lungen, so daß das arterielle Blut arm an Kohlensäure sein wird. Wir haben also auch aus diesen Gründen wiederum eine erhebliche Differenz der Kohlensäurespannungen im venösen und arteriellen System. Diese Kumulierung der Wirkungen der erhöhten Körpertemperatur und des verminderten Luftdrucks erklärt es, daß es bei Arbeitsleistung im Hochgebirge so leicht zu abnorm gesteigerter Atmungstätigkeit kommt, so daß man, wie auch Durig[1]) aus seinen Versuchen folgert, früher an die Grenze der Atmungsmöglichkeit gelangt, als bei gleicher Arbeitsleistung im Tal. Aus dieser Überlegung geht hervor, daß man zur Deutung der Gasaustauschprozesse im Hochgebirge und bei Temperatursteigerung, sei es durch Muskelarbeit, sei es durch Fieber, nicht, wie es bisher im allgemeinen geschehen ist, das Verhalten des arteriellen Blutes in den Vordergrund stellen darf. Vielmehr muß man durchaus dem Verhalten des Capillar- und Venenblutes Rechnung tragen, das in seiner Beschaffenheit mehr als in der Norm von der des Arterienblutes abweicht.

Bei den Vorgängen im Tierkörper wirken die Änderungen im Verhalten des Sauerstoffes und der Kohlensäure wechselseitig aufeinander ein. Hierzu kommt, wie schon erwähnt, daß auch die Zirkulationsverhältnisse des Blutes sich mit erhöhter Körpertemperatur ändern. Die Resultante all dieser Vorgänge zu ziehen, ist schwierig, sie ist wohl auch nicht in allen Fällen die gleiche, so daß man nur die wesentlichen Gesichtspunkte erörtern kann. Die Abnahme des Sauerstoffgehaltes des arteriellen Blutes, wie sie aus der gesteigerten Körpertemperatur resultieren würde, wird durch die gesteigerte Atmung mehr oder weniger wett gemacht, so daß das arterielle

[1]) l. c. S. 337.

Blut mit wenig oder gar nicht gegenüber der Temperatur von 37° vermindertem Sauerstoffgehalt zu den Geweben kommt. Dabei ist jedoch sein Kohlensäuregehalt abnorm gering. Die Abgabe von Sauerstoff an die Gewebe ist durch die im arteriellen Blute herrschende höhere Sauerstoffspannung erleichtert. Da nun auch die Kohlensäurespannung des Capillarblutes bei der erhöhten Temperatur, wie vorstehend ausgeführt, abnorm hoch wird, so ist damit ein weiterer Faktor für eine leichtere Abgabe des Sauerstoffs an die Gewebe gegeben. Es muß also um so mehr die Erhöhung der Körpertemperatur günstig auf die Sauerstoffversorgung der Gewebe wirken.

Beim Aufenthalt im Höhenklima und bereits beginnendem Sauerstoffmangel haben wir mit zwei Faktoren zu tun, die den Sauerstoffgehalt des Blutes herabzusetzen geeignet sind: die gesteigerte Körpertemperatur und die beginnende Acidosis. Die gleichzeitig bestehende Steigerung der Atmung, die, wie oben auseinandergesetzt, hierbei ausgelöst wird, wirkt als Gegenmittel gegen die mangelhaft werdende Sauerstoffversorgung der Gewebe dadurch, daß sie zu einer gesteigerten Sauerstoffspannung in den Lungenalveolen und damit zu einer vermehrten Aufnahme des Sauerstoffs ins Blut führt. Aber abgesehen davon ist auch in der Wirkung jedes der beiden eben genannten Momente auf die Blutkohlensäure gleichfalls eine Kompensation des Sauerstoffmangels gegeben. Denn, wie oben ausgeführt, wirken beide, die Acidose sowohl als auch die Steigerung der Atmung in dem Sinne, daß die Sauerstoffabgabe an die Gewebe begünstigt, also einem eventuellen Sauerstoffmangel entgegengewirkt wird. Auch dieses Verhalten ist geeignet, eine Illustration zu dem bekannten Ausspruche Pflügers zu geben, daß der Eintritt eines Bedürfnisses für den Organismus schon den Beginn der Befriedigung in sich trägt.

In Betracht zu ziehen wäre allerdings noch ein drittes Moment, das eine Rolle im Sinne einer Erschwerung der Sauerstoffversorgung des Körpers bei Steigerung der Körpertemperatur spielen könnte. Es ist dies die erhöhte Wasserdampfspannung in den Lungen. Sie ist jedoch nur gering, denn sie beträgt bei einer Steigerung der Temperatur von 37° auf 42° nur 15,6 mm und bewirkt daher nur eine Abnahme der Sauerstoffspannung in den Lungen von ca. 3 mm.

Überblicken wir alle von uns in Betracht gezogenen Momente, so ergibt sich, daß die Schädigungen, die durch Steigerung der Körpertemperatur, besonders wenn dieselbe mit Sauerstoffmangel verbunden ist, auf den Organismus ausgeübt werden können, vollkommen kompensiert werden können. Das letztere wird jedoch nur eintreten, wenn der von uns besprochene, die Atmung betreffende Regulationsmechanismus in allen seinen Teilen genügend funktioniert. Voraussetzung dabei ist, daß die Herztätigkeit in keiner Weise geschädigt ist, weil sonst die Kompensationsvorgänge nur in ungenügender Weise zur Geltung kommen können.

Aus dem komplizierten Ineinandergreifen der schädigenden und kompensierenden Momente läßt es sich auch verstehen, daß die Körpertemperatursteigerung besonders bei Sauerstoffmangel einen individuell wechselnden Effekt hat, und daß sie auch zeitlich bei dem gleichen Individuum verschiedene Wirkungen auslösen kann.

Studien über den Phosphorgehalt der Hefe und einiger Hefepräparate.

Von

Eduard Buchner und Hugo Haehn.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 21. Juni 1910.)

Nachdem die Bedeutung des Ko-Enzymes als eines für den Gärungsvorgang unentbehrlichen Hilfsstoffes festgestellt und seine Natur als Phosphorsäureverbindung wahrscheinlich gemacht waren,[1]) schienen Versuche über den schwankenden Phosphorgehalt der Hefe und der Hefepräparate unter verschiedenen Bedingungen von Interesse. Im folgenden sind zunächst solche über den Einfluß des Lagerns der Hefe unter Wasser bei gewöhnlicher Temperatur auf Phosphorgehalt und Gärkraft der daraus gewonnenen Preßsäfte zusammengestellt (Tabelle I). Beim Aufbewahren der Hefe unter Wasser werden zwar Phosphorverbindungen in die umgebende Flüssigkeit ausgeschieden, aber der Phosphorgehalt und die Gärkraft des Preßsaftes, dargestellt aus der lagernden Hefe, nehmen nur langsam ab. Das Ko-Enzym wird demnach aus den lebenden Zellen entweder nur sehr allmählich herausdiffundieren, oder es erfolgt, was weniger wahrscheinlich ist, unter diesen Umständen immer wieder Neubildung von solchem. In scharfem Gegensatz dazu läßt sich aus steriler Dauerhefe, ganz wie es L. Iwanoff[2]) und Harden und Young[3]) angeben, jener Hilfsstoff auch nach unseren Beobachtungen außerordentlich leicht durch kaltes Wasser aus-

---

[1]) A. Harden und W. Young; Buchner und Klatte, diese Zeitschr. 8, 520, 1908.

[2]) Centralbl. f. Bakteriologie II, 24, 1, 1909.

[3]) Ebenda II, 26, 183, 1910.

waschen (Tabelle II). Hierin tritt also ein deutlicher Unterschied zwischen lebenden und toten Organismen zutage.

Weitere Versuche berichten über die Verteilung des Phosphorgehaltes der lebenden Zellen zwischen dem flüssigen Saft und den festen Bestandteilen, durch Bestimmung des Phosphorgehaltes des Hefepreßsaftes einerseits und des bei der Herstellung desselben hinterbleibenden Preßrückstandes andererseits (Tabelle III). Angaben über den Phosphorgehalt einiger Dauerhefen sind in Tabelle IV wiedergegeben. Die letzte Tabelle (V) endlich zeigt, daß bei Anwendung von Bierunterhefen im allgemeinen Preßsäfte mit guter Gärkraft höheres spezifisches Gewicht besitzen[1]) und eine größere Acetonfällung geben als solche mit geringer Gärkraft. Dieses Ergebnis ist nicht überraschend, denn dichtere Preßsäfte sind solche, die noch viel hochmolekulare Eiweißkörper und Glykogen enthalten, wodurch bei der Fällung das Gewicht des Niederschlages vermehrt wird. Die Gegenwart dieser Körper beweist, daß die Hefen sich in gutem Ernährungszustand befunden und die proteolytischen Enzyme noch keine Verdauungswirkung entfaltet haben, wobei mit dem Abbau der Proteinstoffe auch eine Zerstörung der Zymase einherschreitet.

Veränderung der Hefe beim Lagern unter Wasser.

Läßt man frische untergärige Bierhefe 1 bis 4 Tage lang bei 18 bis 23° unter viel Wasser liegen (vier derartige Versuche siehe Tabelle I), so gibt sie an das Wasser phosphorfreie und phosphorhaltige Substanzen ab, wodurch die Qualität der Hefe künstlich verschlechtert wird.[2]) Da die Menge der phosphorfreien Ausscheidungsstoffe überwiegt, steigt zwar der prozentische Phosphorgehalt der Hefe beim Lagern ganz erheblich an (Spalte 4 der Tabelle)[3]); wird aber aus der gelagerten Hefe Preßsaft hergestellt,

---

[1]) In Übereinstimmung damit befinden sich auch frühere Untersuchungen, s. E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung. München 1903, S. 75, Tabelle IV, sowie H. Lange, Wochenschr. f. Brau. 24, 460, 1907, Tabelle IVb.

[2]) Diese Beobachtung ist natürlich schon häufig gemacht worden. Ältere Literaturangaben siehe E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung. München 1903, S. 289.

[3]) Ähnliche Beobachtungen haben hinsichtlich des Stickstoff- und Aschengehaltes lagernder Hefe M. Hayduck (Wochenschr. f. Brauerei 1885, 490) und bezüglich des N-Gehaltes M. Jodlbauer (Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 38, 326, 1888) gemacht.

so zeigt derselbe 1. durchgehends geringeren Phosphorprozentgehalt (Spalte 5) als der aus frischer Hefe, offenbar weil beim Lagern unter Wasser gerade die löslichen Phosphorverbindungen, hauptsächlich Alkaliphosphate[1]) und Ko-Enzymphosphor aus den Zellen heraustreten, 2. geringere Dichte (Spalte 6), die von 1,06 auf 1,02 abnehmen kann, wahrscheinlich infolge des Abbaues von ursprünglich vorhandenem Glykogen und infolge beginnender proteolytischer Vorgänge[2]), 3. eine bei längerem Lagern sehr wesentlich verminderte Gärkraft (Spalte 7), die aber auch im äußersten Fall (Nr. 8) immer noch ein Drittel der ursprünglichen betrug, so daß auch hier noch Ko-Enzym im Preßsaft vorhanden gewesen sein muß. Stellt man aus dem Preßsaft Acetonfällung her, so nimmt die Ausbeute daran mit der Dauer des Lagerns und der Dichte der Preßsäfte annähernd regelmäßig ab (Spalte 8). Die Gärkraft der Fällungen stimmt, wenn man für jeden Versuch die 20 ccm Preßsaft entsprechende Menge der Fällung anwendet, ziemlich genau überein mit der Gärkraft der Preßsäfte; es geht also bei der Behandlung mit Aceton, wie schon mehrfach gezeigt,[3]) nichts von den wirksamen Substanzen verloren (Spalte 9).

Was die Herstellung des Hefepreßsaftes betrifft, mag hier erwähnt werden, daß es sich allgemein, besonders aber wenn hoher Glykogengehalt der Hefe ein erfolgreiches Auspressen erschwert und der Preßkuchen schließlich zwar an der Oberfläche trocken wird, im Innern aber feucht bleibt, als zweckmäßig erwiesen hat, zu der mit Quarzsand und Kieselgur wie gewöhnlich bis zu teigförmiger Konsistenz oder auch noch weiter bis zu schmieriger Beschaffenheit zerriebenen Masse mit der Hand noch mehr Kieselgur zuzumischen, bis das Ganze bröcklig wird. Die Menge der nötigen Kieselgur richtet sich nach der Beschaffenheit der jeweiligen Hefe; z. B. erwies sich in einem

---

[1]) Entstanden zum Teil durch Abbau organischer Phosphorsäureverbindungen, wie ein solcher im Preßsaft zuerst von M. Hahn nachgewiesen wurde; siehe: Die Zymasegärung, 1903, S. 306.

[2]) Dieselbe Wahrnehmung an Preßsaft aus einer 20 Stunden lang ausgewaschenen Hefe haben Buchner und R. Rapp veröffentlicht. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 136, 1899, Tab. 32.)

[3]) Vgl. besonders Buchner und Duchaček, diese Zeitschr. 15, 221, 1909.

der Fälle erneuter Zusatz von 80 bis 90 g Kieselgur auf 1000 g Hefe als zweckmäßig. Es scheint, daß beim darauffolgenden Auspressen die unzerrieben gebliebenen hohlen Panzer der Diatomeen im Preßkuchen kleine Abflußkanäle erzeugen, durch die der Saft ungehindert abfließen kann. Auf diese Weise lassen sich stets gute Ausbeuten erhalten (aus 1000 g Hefe ohne jeden Wasserzusatz in der Regel 420 bis 450 ccm Saft und in Ausnahmefällen bis zu 500 ccm).[1])

Tabelle I.

Veränderungen der Hefe beim Lagern unter Wasser.

Nummer	Datum	Ausgangsmaterial: Behandlung der Hefe	Ausgangsmaterial: P_2O_5-Gehalt der abgepreßten Hefe. (Auf wasserfreie Hefe umgerechnet.)	Hefepreßsaft: P_2O_5-Gehalt des Preßsaftes	Hefepreßsaft: Dichte des Preßsaftes	Hefepreßsaft: Gärkraft: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol lieferten nach 4 Tagen CO_2 g	Acetonfällung: Ausbeute aus 100 ccm Hefepreßsaft g	Acetonfällung: Gärkraft: die 20 ccm Preßsaft entsprechende Menge + 19 ccm Wasser + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol gab nach 4 Tagen CO_2 g
1	1908 4. Nov.	frische Hefe (Kontrollversuch)	I. 3,99 % II. 4,12 %	I. 1,01 % II. 1,02 %	1,06	1,93 1,94	20	1,94 1,96
2	5. „	Hefe einen Tag bei 18° gelagert	I. 4,45 % II. 4,50 %	I. 0,90 % II. 0,90 %	1,04	1,44 1,43	15	1,45 1,42
3	8. Dez.	frische Hefe (Kontrollversuch)	I. 4,82 % II. 4,89 %	I. 1,13 % II. 1,15 %	1,05	1,42 1,42	15,5	1,37 1,34
4	10. „	Hefe 2 Tage bei 20° gelagert	I. 5,13 % II. 5,19 %	I. 1,07 % II. 1,08 %	1,04	1,14 1,11	12,5	1,21 1,19
5	1909 2. Febr.	frische Hefe (Kontrollversuch)	I. 4,04 % II. 4,05 %	I. 1,08 % II. 1,08 %	1,06	1,73 1,71	19,8	1,99 2,01
6	5. „	Hefe 3 Tage bei 22° gelagert	I. 4,88 % II. 4,93 %	I. 1,05 % II. 1,06 %	1,04	1,11 1,08	13	1,14 1,18
7	19. Juli	frische Hefe (Kontrollversuch)	I. 3,50 % II. 3,51 %	I. 0,90 % II. 0,90 %	1,06	1,34 1,34	20	1,38 1,37
8	23. „	Hefe 4 Tage bei 23° gelagert	I. 4,78 % II. 4,80 %	I. 0,72 % II. 0,73 %	1,02	0,45 0,45	6,5	0,32 0,33

Bezüglich der Dichtebestimmung der Preßsäfte sei noch bemerkt, daß sie nur nebenbei durch Feststellung des Gewichtes

[1]) Ähnliche Beobachtungen siehe Buchner und R. Gaunt, Liebigs Annalen der Chemie 349, 180, 1906.

von mit der Pipette abgemessenen 20 ccm zur Ausführung kam, ein Verfahren, das immerhin auf 2 Dezimalen ausreichend genaue Resultate ergeben dürfte.

Daß in Wasser, in dem Hefe 2 Tage gelagert hat, erhebliche Mengen von Phosphorsäureverbindungen enthalten sind, läßt sich direkt durch Eindampfen eines größeren, durch ein doppeltes Filter filtrierten Volumens und Schmelzen des Rückstandes mit Soda und Salpeter nachweisen. Die mit Salpetersäure im Überschuß versetzte Lösung der Schmelze gibt mit molybdänsaurem Ammonium den charakteristischen gelben Niederschlag.

Acetondauerhefe und Wasser.

Während beim Lagern lebender Hefe unter Wasser in letzterer immer noch Ko-Enzym vorhanden bleibt, wie soeben gezeigt, läßt sich aus Acetondauerhefe, die auf einem gewöhnlichen Filter 5 Stunden lang mit kaltem Wasser ausgewaschen wird, alles Ko-Enzym entfernen (Tabelle II). Die Versuche 1 und 2 geben die Gärkraft von 2 g dieser Dauerhefe vor der Behandlung wieder (Kontrollversuche). Die Nummern 3, 4, 7 und 8 zeigen, daß dieselbe Menge Dauerhefe nach dem Auswaschen mit Wasser die Gärkraft fast völlig verloren hat. Wie ferner Nr. 5 und 6, sowie 9, alle drei mit Zusatz von Kochsaft nach dem Auswaschen ausgeführt, beweisen, handelt es sich dabei nur um ein Verschwinden des Ko-Enzyms, das durch Kochsaftzusatz wieder ausgeglichen werden kann. Die Versuche 10 und 11 endlich konstatieren, daß die für den Gärungsvorgang unentbehrliche Substanz sich im Waschwasser befindet und durch Einengen desselben im Vakuum zurückgewonnen werden kann. Auf Zusatz des eingedampften Filtrates tritt starke Gärwirkung hervor, wenn sich auch im vorliegenden Falle die frühere nicht vollkommen wieder erreichen ließ.

Jedenfalls zeigen die Versuche einen erheblichen Unterschied zwischen lebender und getöteter Hefe: dort ein Zurückhalten der wichtigen Stoffe im Zellinnern, hier ein unschwierig erreichbares Auswaschen. Im ersteren Falle wird sich dabei die Anwesenheit des Plasmaschlauches bemerkbar machen, denn die Membran bildet, wie die Versuche mit Acetondauerhefe zeigen, kein Hindernis für solche Diffusionsvorgänge.

Tabelle II.

Aus Acetondauerhefe wird das Ko-Enzym durch Wasser leicht herausgewaschen.

Je 2 g Acetondauerhefe (nicht ausgewaschen oder ausgewaschen) + 4 g Glucose + 0,2 ccm Toluol; 22°.

Nummer	Datum	Nach dem Auswaschen Zusatz von je 4 g Glucose und	Kohlendioxyd in g nach Tagen 1	2	3	5	6
1		Kontrollversuche: 2 g nicht ausgewaschene Dauerhefe + 10 ccm Wasser + 4 g Glucose + 0,2 ccm Toluol	0,43	0,78	0,89	0,89	—
2			0,45	0,80	0,92	0,92	—
3	1. Febr.	10 ccm H_2O	0,00	0,00	0,00	0,00	—
4	„		0,02	0,02	0,03	0,03	—
5	„	5 „ H_2O +	0,27	0,56	0,72	1,09	1,10
6	„	5 „ konz. Kochsaft	0,25	0,52	0,68	1,06	1,06
7	4. Febr.	10 „ H_2O	0,00	—	0,01	—	—
8	„		0,01	—	0,02	—	—
9	„	5 „ H_2O + 5 „ konz. Kochsaft	0,21	—	0,78	1,03	1,03
10	„	10 „ eingeengtes Hefefiltrat	0,20	—	0,44	0,47	—
11	„		0,22	—	0,46	0,49	—

Phosphorgehalt von Hefe, Preßsaft und Dauerhefe.

Der Phosphorgehalt der Hefe ist auf eine große Anzahl verschiedener Verbindungen verteilt, von denen die einen, wie z. B. die Nucleine, dem ungelösten Zelleninhalt angehören, während die anderen, wie z. B. Alkaliphosphate und das Ko-Enzym, sich im wässerigen Zellsaft in gelöster Form vorfinden. Einigen Aufschluß über die Verteilung des Phosphorgehaltes zwischen diesen beiden Gruppen von Stoffen mußten Analysen einerseits des Hefepreßsaftes, andererseits des Preßkuchens, der beim Auspressen hinterbleibt, ergeben. Derartige Bestimmungen sind in Tabelle III zusammengestellt. Es zeigte sich, daß von 1,19 g P_2O_5-Gehalt von 100 g abgepreßter Hefe (vor dem Zerreiben bei 70 Atmosphären Druck abgepreßt bis zu einem Wassergehalte von 74,3%) nur 0,37 g im Preßsaft wieder erscheinen, während weitaus die größte Menge, etwa zwei Drittel des ganzen Phosphorgehaltes, im Preßrückstand zurückbleibt. Wenn auch die unlöslichen Phosphorverbindungen der Hefe hier vielleicht noch vermehrt sind durch auf der Kieselgur adsorbierte Phosphorverbindungen, so trifft

demnach doch jedenfalls die Hauptmenge des Phosphorgehaltes auf die ungelösten Anteile.

Der Aschengehalt der verwendeten Unterhefe aus der Schultheißbrauerei in Berlin von 8,9% im Durchschnitt war ein beträchtlich höherer als er sonst meist gefunden wurde,[1]) und übertraf sogar noch die Maximalangabe von 8,7% Aschengehalt in F. Lafars Handbuch der Mycologie[2]). Der Phosphorsäuregehalt betrug auch in unserem Falle wie gewöhnlich ungefähr 50% der Asche.

Tabelle III.

Einige analytische Daten einer Unterhefe und des zugehörigen Preßsaftes.

	I.	II.
Wassergehalt der abgepreßten Hefe	74,29%	74,35%
Aschengehalt der Hefe, ber. auf Trockensubstanz	8,80 „	9,03 „
P_2O_5-Gehalt der Hefe, ber. auf. Trockensubstanz (105°)	4,48 „	4,55 „
P_2O_5-Gehalt der abgepreßten Hefe	1,19 „	1,19 „
P_2O_5-Gehalt des Preßrückstandes[3])	0,82 „	0,82 „
P_2O_5-Gehalt des Preßsaftes[3])	0,79 „	0,81 „
Dichte des Preßsaftes	1,05	1,05
Gärkraft des Preßsaftes (20 ccm)	1,62 g CO_2	1,63 g CO_2

Zur Methodik sei noch bemerkt, daß für die Phosphorsäurebestimmungen die Substanzen, allenfalls nach dem Eindampfen mit krystallisierter Soda, mit Salpeter geschmolzen und nach dem Auflösen und Ansäuern mit Salpetersäure mit molybdänsaurem Ammonium versetzt wurden. Der Phosphor kam dann als Magnesiumpyrophosphat zur Wägung. Zur Bestimmung des Aschengehaltes wurde im Platintiegel langsam verkohlt und hierauf unter Zusatz von etwas Ammoniumnitrat geglüht. Die Wasserbestimmungen erfolgten bei 105°.

Über Phosphorgehalt und Gärkraft auf verschiedene Weise hergestellter Dauerhefen berichtet Tabelle IV. In beiden dort

[1]) So geben A. Mayer, J. Meisenheimer, Gärungschemie, 6. Aufl., 1906, S. 112, und M. Maercker, M. Delbrück, Spiritusfabrikation, 8. Aufl., 1903, S. 488, bis zu 7,5%; E. Kayser, Les Levures, 2. Aufl., S. 42, 554, bis 7,5%, und E. Duclaux, Mikrobiologie 3, 135, 6 bis 7% Aschengehalt an.

[2]) 4, 83, 1907.

[3]) Bei diesen Versuchen waren aus 100 g abgepreßter Hefe 42 g Preßsaft und demnach 58 g Preßrückstand erhalten worden.

aufgeführten Beispielen ist der höchste Phosphorgehalt bei den ausschließlich mit Aceton hergestellten Dauerhefen Nr. 3 und 6 zu finden. Es scheint demnach, daß durch Äther eine lösliche Phosphorverbindung bei der Darstellung der Dauerhefe extrahiert wird. Ein Zusammenhang zwischen Phosphorsäuregehalt der Dauerhefe und Gärkraft hat sich bisher nicht feststellen lassen; während im 1. Beispiel die durch hohen Phosphorgehalt ausgezeichnete Aceton-Dauerhefe auch die höchste Gärkraft hatte, ist bei dem 2. Versuch dies nicht zutreffend. Hier war die Hefe vor Überführung in Dauerhefe absichtlich lange gelagert und dadurch in einen leidenden Zustand versetzt worden.

Tabelle IV.

Phosphorgehalt und Gärkraft einiger Dauerhefen.

Nummer	Datum	Hefesorte	P_2O_5 in %		Gärkraft: 2 g Dauerhefe + 4 g Rohrzucker + 10 ccm Wasser + 0,2 ccm Toluol gaben nach 6 Tg. Kohlendioxyd g	
			I.	II.	I.	II.
1 [1])	1908 8. Mai	Aceton-Äther-Dauerhefe	3,37	3,67	0,75	0,70
2		Alkohol-Äther-Dauerhefe	3,81	3,80	0,53	0,54
3		Aceton-Dauerhefe	4,00	3,91	0,89	0,90
4	21. Mai	Aceton-Äther-Dauerhefe	3,88	3,92	0,70	0,69
5		Alkohol-Äther-Dauerhefe	3,90	3,81	—	—
6		Aceton-Dauerhefe	4,11	4,11	0,56	0,54

Einen Vergleich zwischen Phosphorgehalt, Gärkraft, Dichte verschiedener Hefepreßsäfte und dem Gewicht ihrer Acetonfällungen ermöglicht Tabelle V. In allen dortigen Beispielen zeigt sich bei steter Anwendung untergäriger Bierhefe, aber verschiedener Herkunft, daß mit höherer Dichte und besserer Ausbeute bei der Acetonfällung höhere Gärkraft des Preßsaftes verbunden ist. Dagegen läßt sich zwischen dem Phosphorgehalt des Preßsaftes und der Gärkraft kein Zusammenhang nachweisen; denn es besaß z. B. der Preßsaft Nr. 7 0,88% Phosphorsäure und nur 0,70 g Gärkraft, wogegen der Saft Nr. 4 bei nur 0,80% Phosphorsäuregehalt eine Gärkraft von

[1]) Für Versuche Nr. 1 bis 3 kam dieselbe abgepreßte Berliner untergärige Hefe zur Verwendung; ebenso wurden die Dauerhefen 4 bis 6 aus ein und demselben Material hergestellt.

1,60 g erreichte. Wenn in den Hefezellen außer dem für den Gärungsvorgang so wichtigen Ko-Enzym eine sehr viel größere Menge, für letzteren zunächst bedeutungsloser unlöslicher Phosphorverbindungen vorhanden ist, die durch irgend welche Vorgänge in lösliche Form übergeführt werden kann, so ist nicht zu verwundern, daß die Stärke der Gärung nicht direkt mit dem Phosphorgehalt des Preßsaftes übereinstimmt.

Man wird übrigens nicht vergessen dürfen, daß die wenigen bisher vorliegenden derartigen Versuche über den Phosphorgehalt der Preßsäfte nur als Anfang von solchen Untersuchungen gelten können[1]) und kein abschließendes Urteil gestatten.

Tabelle V.

Phosphorgehalt, Dichte und Gärkraft verschiedener Hefepreßsäfte und Gewicht ihrer Acetonfällungen.

Nummer	Datum	Herkunft der Unterhefen	P_2O_5-Gehalt der abgepreßten Hefe (auf wasserfreie Hefe bezogen) %	P_2O_5-Gehalt des Preßsaftes %	Acetonfällung von 100 ccm Preßsaft g	Dichte des Preßsaftes	Gärkraft: 20 ccm Preßsaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol gaben CO_2 in g
1	Aug. 08	Berliner untergärige Hefe		I. 0,87 II. 0,87		1,06	1,95
2	20. Okt.			0,88		1,05	1,86
						1,05	1,86
3	10. Nov.				20		1,66
4	3. Okt.		I. 4,48 II. 4,55	I. 0,79 II. 0,81		1,05 1,05	1,60
5	17. Nov.				14,5		1,28
6	22. Nov.	München		I. 0,80 II. 0,79	9,5	1,03 1,03	0,84
7	1. Dez.	München	I. 4,92 II. 4,99	I. 0,88 II. 0,89		1,03 1,03	0,71 0,70
8	Juli 09	Berlin			10		0,58
9	1. Nov.	Breslau			9,6		0,83

[1]) Ein von F. Duchaček untersuchter Preßsaft aus untergäriger Bierhefe (diese Zeitschr. 15, 249, 1909) ergab 0,98% Phosphorsäure bei einer Gärkraft von 1,9 g CO_2.

Zur Kenntnis des Essigätherextraktes der Organe und seines Verhaltens bei der Autolyse.

IV. Mitteilung.

Untersuchungen an Nieren und Milz.

Von

Kenro Kondo.

(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts in Breslau.)

(Eingegangen am 22. Juni 1910.)

In ähnlicher Weise wie für die Leber wurde auch für Niere und Milz festzustellen gesucht, ob sie ein Enzym enthalten, das Cholesterinester zu spalten vermag. Fluornatriumextrakte dieser Organe wurden teils ohne Zusatz, teils nach Zusatz einer Cholesterinester-Öl-Ölsäureemulsion 48 Stunden in der Wärme stehen gelassen. Dann wurde in der früher beschriebenen Weise untersucht, ob die Menge der acetylierbaren Substanzen bei der Digestion zunahm. Eine solche Zunahme trat ein. Sie konnte aber nicht ohne weiteres als Beweis für eine eingetretene Spaltung der Cholesterinester betrachtet werden, da sich im weiteren Verlauf der Untersuchungen — durch Vergleich der Acetylzahl mit den direkt bestimmten Mengen des Cholesterins — herausstellte, daß auch in den Nieren- und Milzextrakten neben Cholesterin noch andere Körper mit Hydroxylgruppen enthalten sind — vermutlich Oxyfettsäuren —, deren Menge beim Stehen in der Wärme zunimmt.

1. Untersuchungen an den Nieren von Pferd und Rind.

a) Bestimmung des Cholesterins.

Methode der Untersuchung. Eine abgewogene Menge der fein zerhackten Niere wurde mit der 3fachen Menge 94%igen Alkohols

bis zum Sieden erhitzt. Die geronnene Masse wurde auf der Nutsche abgesaugt und noch 2 mal in derselben Weise mit Alkohol ausgekocht. Die Extrakte wurden bei erniedrigtem Druck auf dem Wasserbade so weit als möglich eingeengt. Der Rest des Alkohols wurde in der Schale bei gelinder Temperatur auf dem Wasserbade verjagt, der Rückstand in früher beschriebener Weise mit Essigäther behandelt und der Essigätherrückstand genau gewogen.

In den Versuchen der Tabelle I wurde in üblicher Weise die Verseifungszahl durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge und Zurücktitrieren mit Salzsäure bestimmt. Dann wurde die Flüssigkeit durch Zusatz einer kleinen Menge alkoholischer Kalilauge wieder stark alkalisch gemacht und mit Petroläther wiederholt ausgeschüttelt. Von den vereinigten Petrolätherextrakten wurde der größere Teil des Petroläthers abdestilliert und der Rest zur Entfernung von Seifen so lange mit stark verdünntem Alkohol geschüttelt, bis dieser nach dem Schütteln rotes Lackmoidpapier nicht mehr bläute. Dann wurde der Petroläther abdestilliert, der Rückstand auf dem Wasserbade im Leuchtgasstrome bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Das so erhaltene Rohcholesterin war noch mit einer geringen Menge Schmieren verunreinigt, von denen es sich leicht durch Umkrystallisieren aus Alkohol befreien ließ.

Tabelle I.

Versuch	Niere	Essigätherextrakt g	Verseifungszahl	Cholesterin g	Cholesterin Schmelzpunkt	Cholesterin Extrakt %	Cholesterin Niere %
1	500 g, Rind	4,5685	109,5	1,7587	137°	38,5	0,35
2	500 g, „	3,9728	99,2	1,5232	138°	38,7	0,30
3	420 g, Pferd	2,1727	60,6	1,1391	139°	52,5	0,27
4	500 g, „	2,8923	56,3	1,6234	138°	56,0	0,32

Die Zahlen zeigen, daß die Mengen des Cholesterins in der Niere verhältnismäßig sehr große sind. Man beachte im besonderen, daß das Cholesterin beim Rind fast 40%, beim Pferd über 50% vom Gewichte des Essigätherextraktes bildet, der doch auch die ganze Menge des echten Fettes enthalten muß.

b) Die Acetylzahl des Essigätherextraktes im Vergleich zum Cholesteringehalt.

Die Untersuchung wurde in derselben Weise wie früher bei der Leber vorgenommen, nur wurden die Barytseifen, die aus dem Essigätherextrakt abgeschieden worden waren, nicht

mit Äther, in dem sich ölsaurer Baryt löst, sondern mit warmem Alkohol gewaschen.

Auf der folgenden Tabelle sind wieder die Mengen Natronlauge angegeben, die der bei der Acetylierung gebundenen Menge Essigsäure entsprechen und weiter die ihr entsprechenden Mengen Cholesterin, bezogen auf 100 Teile des säurefreien Essigätherextraktes. Daneben wurde in einem anderen Teile des säurefreien Essigätherextraktes das Cholesterin direkt in der oben beschriebenen Weise bestimmt. Der in diesen Versuchen erhaltene Petrolätherrückstand enthielt, wie auch der Schmelzpunkt zeigt, neben Cholesterin noch weniger Verunreinigungen als in den Versuchen der Tabelle I.

Tabelle II.

Versuch	Niere	Essigätherextrakt	Essigätherextrakt minus Fettsäuren	Vom Essigätherextrakt verarbeitet	Natronlauge[1])	Cholesterin				
						g	Schmelzpunkt	Niere %	Extrakt gewogen %	Extrakt aus NaOH berechn. %
1	400 g, Rind	5,0290	4,4249	1,5961	20,8	—	—	—	—	52,4
				2,4074	—	0,8291	141°	0,21	34,4	—
2	500 g, „	4,2030	3,6301	1,2324	19,0	—	—	—	—	63,4
				2,2735	—	0,7188	141°	0,14	31,6	—
3	430 g, Pferd	2,5159	2,3207	1,1476	24,7	—	—	—	—	88,5
				1,1670	—	0,6892	140°	0,16	59,1	—
4	500 g, „	2,8238	2,6250	1,0283	23,8	—	—	—	—	95,2
				1,5718	—	0,7099	141°	0,14	45,2	—

Die Mengen des Cholesterins bezogen auf das frische Organ sind geringer als in der Tabelle I. Ich betrachte diese Zahlen als die richtigeren.

Hätte der Essigätherextrakt an acetylierbaren Substanzen nur Cholesterin enthalten, so hätte die Menge Cholesterin, die sich aus der Acetylzahl berechnen läßt, mit dem wirklich gefundenen Cholesterin übereinstimmen müssen. In diesem Falle hätte man auch mit Hilfe der Acetylzahl entscheiden können, wieviel von dem Cholesterin frei und wieviel gebunden war. Die beiden letzten Spalten zeigen aber, daß die Acetylzahlen erheblich größer waren, als daß sie nur durch Cholesterin be-

[1]) 1 ccm = 5,7 mg KOH.

dingt sein konnten. Die Nieren enthielten also auch andere Stoffe mit Hydroxylgruppen.

c) Die Acetylzahl des Essigätherextraktes vor und nach der Autolyse.

Zunächst seien 2 Versuche angeführt, bei denen der Fluornatriumextrakt der Niere ohne weiteren Zusatz, und zwar a vor, b nach 48stündigem Stehen in der Wärme untersucht wurde.

Die Extrakte waren in der üblichen Weise hergestellt worden, indem man eine abgewogene Menge des zermalenen Organes mit der doppelten Menge einer 1%igen Fluornatriumlösung unter Umrühren oder Schütteln eine Zeit lang stehen ließ und dann durch Gaze abpreßte. Die Extrakte wurden in der früher beschriebenen Weise weiter verarbeitet. Bemerkt sei nur, daß aus dem Essigätherextrakte die freien Fettsäuren mit Baryt abgeschieden und die Barytseifen mit Alkohol, nicht mit Äther, gewaschen wurden.

Tabelle III.

Nierenextrakt	Essigätherextrakt	Säurefreier Essigätherextrakt	Natronlauge[1]) ccm
500 g, Pferd	a) 0,6999	0,5526	10,9
	b) 1,2224	0,5869	17,7
500 g, „	a) 0,7088	0,6021	11,2
	b) 1,1023	0,6123	16,3

Die Menge des Essigätherextraktes nahm bei der Autolyse zu. Es deutet dies darauf hin, daß bei der Autolyse aus in Essigäther unlöslichen Substanzen (Lecithin?) Fettsäuren entstehen, die in dem Fluornatriumextrakt nicht die zu ihrer Bindung notwendigen Mengen Alkali finden.

Die Zahlen für die bei der Acetylierung gebundene Essigsäure zeigen, daß bei der Autolyse eine Bildung von Hydroxylgruppen stattfindet.

Eine viel bedeutendere Zunahme der Acetylzahlen trat ein, als die Fluornatriumextrakte der Nieren unter Zusatz einer Cholesterinester-Ölemulsion digeriert wurden.

In einer ersten Versuchsreihe wurden nur die Essigätherextrakte vor und nach der Digestion acetyliert.

[1]) 1 ccm = 5,7 mg KOH.

Tabelle IV.

Nierenextrakt	Emulsion		Essigäther-extrakt	Natron-lauge[1])
	Cholesterinester	Öl		
400 ccm, Rind	0,5	2,0	a) 3,1164 b) 3,1189	19,0 28,8
400 „ „	0,5	2,0	a) 3,8192 b) 3,8328	21,0 30,2
400 „ Pferd	0,5	2,0	a) 2,9112 b) 3,2014	17,0 30,0
600 „ „	0,7	2,0	a) 4,1232 b) 4,1445	21,2 38,9

In den folgenden Versuchsreihen wurde genau so verfahren wie in den entsprechenden Versuchsreihen der Lebern, d. h. es wurde acetyliert a) der säurefreie Essigätherextrakt (die abgeschiedenen Barytstreifen waren hier noch mit Äther gewaschen worden); b) die Fettsäuren, die durch Verseifen der in Essigäther unlöslichen Bestandteile des Alkoholextraktes gewonnen worden waren, zusammen mit den Fettsäuren, die man durch Baryt aus dem Essigätherextrakte abgeschieden hatte.

Tabelle V.

Nierenextrakt	Emulsion		Essig-äther-extrakt	Essigäther-extrakt säurefrei	NaOH ccm[2])	Fett-säuren	NaOH
	Cholesterinester	Öl					
500 ccm, Pferd	0,5	2	a) 2,7549 b) 3,3654	2,6055 3,1380	20,0 33,2	0,9924 0,9337	10,3 27,5
500 „ „	0,5	2	a) 2,4184 b) 2,6293	2,3002 2,4025	20,9 30,1	1,0283 1,0291	12,5 30,4

Ob die Zunahme der Acetylzahl des Essigätherextraktes bei der Digestion auf einem Freiwerden von Cholesterin durch Spaltung von Cholesterinestern — der in der Niere vorhandenen bzw. der zugesetzten — oder auf einer Oxydation der in den Estern bzw. dem Fett gebundenen Ölsäure beruhte, läßt sich zunächst nicht entscheiden.

Es nahm aber auch wie bei der Leber die Acetylzahl des Fettsäuregemisches zu, das nach Verseifung der in Essigäther unlöslichen Teile des Alkoholextraktes gewonnen wurde.

[1]) 1 ccm = 5,6 mg KOH.

[2]) 1 ccm = 5,7 mg KOH.

Diese Zunahme läßt sich am einfachsten durch eine Oxydation von Ölsäure erklären. Doch soll auch dies noch genauer untersucht werden.

Da es nicht ausgeschlossen war, daß bei der Autolyse das Cholesterin selbst durch Oxydation angegriffen wurde und zur Entstehung von Oxysäuren Veranlassung gab, so wurde in den beiden folgenden Versuchen vor und nach der Autolyse, wie in den Versuchen der Tabelle I das Gewicht des Petroläther-extraktes bestimmt.

Tabelle VI.

Fluornatrium-extrakt der Niere	Essigäther-extrakt	Cholesterin	Schmelzpunkt
400 ccm, Rind	a) 0,6825	0,2443	135° C
	b) 0,9009	0,2757	136° C
500 „ Pferd	a) 0,7928	0,1991	127° C
	b) 0,8780	0,2161	136° C

Auch hier sieht man, daß bei der Autolyse, wie in den Versuchen der Tabelle III, die Menge der in Essigäther löslichen Stoffe zunimmt. Des weiteren läßt die Bestimmung der hochmolekularen Alkohole — wesentlich, vielleicht ausschließlich Cholesterin — erkennen, daß sich die Menge des Cholesterins bei der Autolyse nicht verminderte. Es ist also nicht anzunehmen, daß die acetylierbaren Substanzen bei der Autolyse auf Kosten von Cholesterin entstanden.

2. Untersuchungen an der Milz von Rind und Pferd.

a) Bestimmung des Cholesterins.

Die Menge des Cholesterins, die in der Milz enthalten ist, wurde in derselben Weise wie bei der Niere bestimmt.

Tabelle VII.

Versuch	Milz	Essigäther-extrakt g	Verseifungszahl	Cholesterin g	Cholesterin Essigäther-extrakt %	Cholesterin fr. Organ %	Schmelzpunkt
1	Pferd, 300 g	1,9782	47,5	0,9415	47,5	0,31	143° C
2	„ 400 g	2,1302	51,2	0,9998	46,7	0,25	142° C
4	Rind, 320 g	6,4553	39,6	1,2192	18,8	0,38	140° C
5	„ 400 g	5,2324	43,1	1,9284	36,4	0,48	141° C

Sie ist, wenn man auch die Zahlen der folgenden Tabelle VIII berücksichtigt, etwa so groß als in der Niere. In der Rindermilz bildet das Cholesterin etwa ein Drittel, in der Pferdemilz nach Tabelle VII fast die Hälfte, nach Tabelle VIII mehr als die Hälfte aller in Essigäther löslichen Bestandteile. Es zeigt sich also auch hier die Bedeutung, die dem Cholesterin im Vergleich zum Fette zukommt. Letzteres ergibt sich auch aus den auffallend niedrigen Verseifungszahlen.

b) Die Acetylzahl des Essigätherextrakts im Vergleich zum Cholesteringehalt.

Der Vergleich der Acetylzahl des Essigätherextraktes mit der Menge des direkt bestimmten Cholesterins zeigt einen wesentlichen Unterschied zwischen der Milz und Niere bzw. Leber.

Tabelle VIII.

Versuch	Milz	Essigätherextrakt	Essigätherextrakt minus Fettsäuren	Essigätherextrakt verarbeitet	Natronlauge [1])	Cholesterin				
						g	Schmelzpunkt	Milz %	Essigätherextr. bestimmt %	Essigätherextr. aus NaOH berechn. %
1	Rind, 500 g	5,4132	5,2665	1,6215	19,0	—	—	—	—	48,19
				3,5440	—	1,2715	139°C	0,25	35,86	—
2	„ 500 g	5,7234	5,5623	1,8218	21,9	—	—	—	—	49,41
				3,6923	—	1,3002	140°C	0,26	35,21	—
3	Pferd, 450 g	2,6458	2,3981	0,8418	12,7	—	—	—	—	62,0
				1,5400	—	0,9840	140°C	0,22	63,9	—
4	„ 500 g	2,7008	2,4121	0,9909	14,2	—	—	—	—	58,91
				1,4201	—	0,8993	139°C	0,18	63,3	—

Während bei letzteren die Menge des Cholesterins, die sich aus der Acetylzahl berechnen ließ, stets bedeutend größer war als die unmittelbar gefundene, ist dieser Unterschied bei der Rindermilz ein geringerer, und bei der Pferdemilz stimmt die berechnete Menge mit der gefundenen innerhalb der Fehlergrenzen überein.

Es scheinen also in der Milz neben Cholesterin nur geringe Mengen anderer acetylierbarer Stoffe vorhanden zu sein.

[1]) 1 ccm = 5,7 mg KOH = 41,1 mg Cholesterin.

c) Die Acetylzahl des Essigätherextraktes vor und nach der Autolyse.

In den zwei Versuchen der Tabelle IX wurden die Fluornatriumextrakte der Pferdemilz ohne weiteren Zusatz digeriert.

Tabelle IX.

Versuch[1])	Fluornatriumextrakt Milz	Essigätherextrakt	Essigätherextrakt fettsäurefrei	NaOH[2])	Fettsäuren	NaOH
1	Pferd, 500 ccm	a) 0,9831	0,7678	11,6	0,7446	6,0
		b) 1,7608	0,9716	17,2	1,3624	4,4
2	„ 500 „	a) 1,0992	0,8699	12,1	0,6908	5,9
		b) 1,6001	1,0021	14,0	1,1028	5,0

Eine Zunahme der Acetylzahl des Essigätherextraktes war in dem ersten der beiden Versuche sicher vorhanden, im zweiten Versuche war sie nur gering.

Die Acetylzahl der „Fettsäuren" nahm nicht zu, sondern sogar ab. In dieser Beziehung unterschieden sich die Milzextrakte sehr wesentlich von denen der Leber und Niere. Diese Tatsache steht vermutlich in Beziehung zu dem geringen Unterschiede, der zwischen der Acetylzahl des Essigätherextraktes und dem Cholesteringehalt gefunden wurde.

Zwei weitere Versuche wurden in genau derselben Weise durchgeführt, nachdem zu den Fluornatriumextrakten eine Cholesterinesterölemulsion hinzugefügt worden war.

Tabelle X.

Versuch[3])	Fluornatriumextrakt	Zusatz von Cholesterinester	Zusatz von Ölsäure	Essigätherextrakt	Essigätherextrakt minus Fettsäuren	NaOH[4])	Fettsäuren	NaOH
1	Pferd, 500 ccm	0,7	2,0	a) 2,9483	2,7311	22,2	0,8436	18,2
				b) 3,9988	2,0012	24,1	1,9998	19,9
2	„ 500 „	0,7	2,0	a) 3.6398	2.9032	27,8	2,1249	19,3
				b) 4,5112	2,4573	28,8	3,0420	20,8

[1]) Milz 1 Stunde extrahiert, Extrakt 48 Stunden digeriert, nicht geschüttelt.

[2]) 1 ccm = 5,7 mg KOH.

[3]) Milz 2 Stunden extrahiert, Extrakt 48 Stunden in der Wärme geschüttelt.

[4]) 1 ccm = 5,7 mg KOH.

Die Zunahme der Acetylzahl im Essigätherextrakt war auch hier nur eine auffallend geringe. Eine Spaltung der Cholesterinester konnte also nur in geringem Umfange stattgefunden haben. Auch die Acetylzahl der „Fettsäuren" nahm nur wenig zu.

Das Ergebnis dieser Versuche war insofern ein unerwartetes, als in der folgenden Versuchsreihe, die vor den zuletzt erwähnten Versuchen angestellt worden war, die Acetylzahl des Essigätherextraktes sehr bedeutend zugenommen hatte.

Tabelle XI.

Versuch[1])	Fluornatriumextrakt der Milz	Cholesterinester	Öl-Ölsäure	Essigätherextrakt	NaOH[2])
1	Rind, 500 ccm	0,5	2,0	a) 3,1582 b) 3,4362	29,4 40,7
2	„ 500 „	0,5	2,0	a) 3,2911 b) 3,3988	28,8 42,0
3	Pferd, 450 „	0,7	2,0	a) 3,8500 b) 4,1939	28,7 56,4
4	„ 450 „	0,7	2,0	a) 3,2012 b) 3,9118	25,2 50,4

Wie sich dieser Widerspruch erklärt, muß durch weitere Versuche festgestellt werden.

Während die im vorstehenden beschriebenen Versuche im Gange waren, erschien die bedeutungsvolle Arbeit von A. Windaus[3]), in der er die Fällung des Cholesterins durch Digitonin zur Bestimmung des Cholesterins empfiehlt und diese Methode zur Bestimmung der Menge des freien und gebundenen Cholesterins in normalen und verfetteten Nieren benutzt. Mit Hilfe dieser Methode soll auch die Frage nach dem Vorhandensein von cholesterinesterspaltenden Enzymen in den normalen Organen einer erneuten Bearbeitung unterzogen und die Untersuchung auch auf erkrankte Organe ausgedehnt werden.

[1]) Die Milz wurde 1 Stunde extrahiert, dann wurde der Extrakt mit der Cholesterinesterölemulsion versetzt und a) sofort verarbeitet, b) 48 Stunden in der Wärme geschüttelt.

[2]) 1 ccm = 5,6 mg KOH.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 110, 1910.

Zur Kenntnis des Essigätherextraktes der Organe und seines Verhaltens bei der Autolyse.

V. Mitteilung.

Versuche mit Blut.

Von

Kenro Kondo.

(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 22. Juni 1910.)

Das Blutplasma enthält bekanntlich Cholesterinester, die Blutkörperchen enthalten dagegen nur Cholesterin. Es ließ dies die Frage berechtigt erscheinen, ob diese Tatsache vielleicht darauf beruhe, daß die roten Blutkörperchen Cholesterinester aus dem Blutplasma aufnehmen, die Ester spalten und die Fettsäuren verbrennen, während das Cholesterin als schwer verbrennlicher Stoff in den Blutkörperchen zurückbleibt, um in der Galle zusammen mit den Umwandlungsprodukten des Blutfarbstoffes beim Zerfall der gealterten Blutkörperchen in der Leber frei zu werden und zur Ausscheidung zu gelangen. Die folgenden Versuche, die ich ebenso wie die bisher beschriebenen auf Anregung und unter Leitung von Prof. F. Röhmann ausführte, zeigten, daß weder im Blutplasma noch in den roten Blutkörperchen ein cholesterinesterspaltendes Enzym nachweisbar war. Die Acetylzahl des Essigätherextraktes nahm weder bei der Autolyse des Gesamtblutes zu, noch nahm sie zu, wenn dem Blutkörperchenbrei vor der Autolyse eine Emulsion von Cholesterinestern zugesetzt worden war. Es beruhte dies nicht auf einer Hemmung, die das Blut auf ein vorhandenes Enzym ausübte. Denn die Zunahme der Acetylzahl fand statt, wenn man ein Gemisch von Blut und Leberextrakt miteinander in der Wärme stehen ließ. Das Ergebnis der Untersuchung des Blutes war also ein vollkommen anderes als das der Untersuchung von Leber, Nieren (und Milz?).

Auch die Acetylzahl des in Wasser unlöslichen Fettsäuregemisches, das durch Verseifung der in Essigäther nicht löslichen Stoffe des Alkoholextraktes gewonnen wurde, ließ keine Zunahme nach der Autolyse erkennen, sondern eher eine kleine Abnahme. Es glich in letzterer Beziehung das Verhalten des Blutes dem der Milz.

1. Autolyse von Gesamtblut.

Methode der Untersuchung. Zu den Versuchen diente Pferdeblut. Es wurde in den Versuchen 1 und 2 unter Zusatz von 0,1% oxalsaurem Natrium und 1% einer 10%igen alkoholischen Thymollösung, in den übrigen Versuchen unter Zusatz von 1,5% Fluornatrium aufgefangen. Von den Salzen befand sich im Auffangegefäß eine konzentrierte Lösung, die mit dem einfließenden Blute verrührt wurde. Ein Teil des Blutes, und zwar stets 500 ccm, wurde dann sofort mit der dreifachen Menge 94%igen Alkohols gefällt, ein anderer Teil, ebenfalls 500 ccm, blieb im Wärmeschranke stehen, und zwar in den Versuchen 1, 2, 3, 5 zweiundsiebzig, in den Versuchen 4 und 8 achtundvierzig Stunden. Auch er wurde dann mit Alkohol gefällt. Der durch Alkohol erzeugte Niederschlag wurde auf der Nutsche abgesaugt und abgepreßt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bei gelinder Temperatur abgedampft. Währenddessen wurde der Niederschlag noch dreimal mit Alkohol ausgekocht. Die alkoholischen Extrakte wurden auf dem Wasserbade bei vermindertem Drucke möglichst eingeengt. Der Rückstand dieser Alkoholextrakte wurde mit dem Rückstande des ersten Filtrats vereinigt und auf schwach geheiztem Wasserbade vorsichtig bis zur Sirupkonsistenz eingeengt. In den Versuchen 1 und 2 wurde dieser Rückstand mit Äther extrahiert und der Ätherrückstand in der früher beschriebenen Weise mit Essigäther ausgezogen. In den anderen Versuchen geschah die Extraktion des Alkoholrückstandes mit Essigäther unmittelbar. Der Essigäther wurde verdunstet, der Rückstand im Leuchtgasstrome getrocknet, gewogen und acetyliert. Die hierbei gebundenen Mengen Essigsäure finden sich ausgedrückt in den gleichwertigen Mengen Natronlauge in der folgenden Tabelle.

Tabelle I.

Vers.	Ätherextrakt	Essigätherextrakt	NaOH ccm[1])	Vers.	Ätherextrakt	Essigätherextrakt	NaOH ccm[1])
1	a) 2,2134	0,6427	6,3	4		a) 0,9149	8,4
	b) 1,4275	0,6358	5,2			b) 0,7815	4,9
2	a) 2,3180	0,8014	7,3	5		a) 1,1175	9,3
	b) 1,6210	0,8002	6,4			b) 1,1023	8,9
3		a) 0,8611	8,4	6		a) 0,7377	6,3
		b) 0,9172	6,8			b) 0,7093	2,8

[1]) 1 ccm = 7,7 mg KOH = 55 mg Cholesterin.

Aus den Zahlen von Versuch 1 und 2 ersieht man zunächst, daß bei der Autolyse des Gesamtblutes der Ätherextrakt abnimmt, wie dies nach den Versuchen von F. Röhmann und R. Weigert[1]) zu erwarten war. Die Verminderung des Essigätherextraktes ist eine viel geringere. Es ist also anscheinend weder das Fett, noch sind es die Cholesterinester, die bei der Autolyse gespalten werden, sondern vermutlich die Lecithine. Gegen eine Spaltung der Cholesterinester spricht aber besonders das Verhalten der Acetylzahl. Würde Cholesterin frei, so müßte die Acetylzahl zunehmen. Sie nahm aber ausnahmslos ab. Ein cholesterinesterspaltendes Enzym war also bei der Autolyse des Gesamtblutes nicht nachweisbar.

2. Digestion eines Gemisches von Blutplasma bzw. defibriniertem Blut und Leberextrakt.

Nach Erfahrungen, die bei anderen Enzymen gemacht worden sind, bewies das Ausbleiben einer Spaltung der Cholesterinester bei der Digestion des Blutes noch nicht das Fehlen eines entsprechenden Enzyms. Es konnte darauf beruhen, daß Stoffe im Blute vorhanden waren, welche die Wirkung des Enzyms verhinderten. Es wurde deshalb in zwei Versuchen das Plasma von Pferdeblut mit dem Chloroformwasserextrakt von Rindslebern digeriert, von dem wir früher gesehen haben, daß er anscheinend das gesuchte Enzym enthält.

Tabelle II.

Vers.		Essigätherextrakt	NaOH ccm[2])
1	500 ccm Blutplasma vom Pferde mit	a) 0,9532	4,8
	100 ccm Rindsleberextrakt	b) 1,0238	5,9
2	400 ccm Blutplasma vom Pferde mit	a) 0,9617	4,9
	100 ccm Rindsleberextrakt	b) 0,8535	6,4
3	250 ccm defibriniertes Hundeblut und	a) 0,3851	2,1
	150 ccm Hundeleberextrakt	b) 0,3707	2,0

Zur Gewinnung von Blutplasma blieb Pferdeblut eine kurze Zeit in der Kälte stehen, dann wurde das Plasma abgehoben und mit Fluornatrium versetzt. Die Lebern wurden zermalen und, wie stets, mit der doppelten Menge 5%igen Chloroformwassers extrahiert. Zu einem weiteren Versuche diente das

[1]) R. Weigert, Über das Verhalten der in Äther löslichen Substanzen des Blutes bei der Digestion. Arch. f. d. ges. Physiol. 82, 86, 1900.

[2]) 1 ccm = 7,7 mg KOH.

defibrinierte Blut eines Hundes und der Chloroformwasserextrakt seiner Leber.

Die Dauer der Digestion betrug im ersten und dritten Versuch 24, im zweiten 48 Stunden (s. Tabelle II).

In diesen Versuchen nahmen die Acetylzahlen nicht ab. In den Versuchen mit dem Blutplasma vom Pferde und dem Extrakt der Rindsleber nahmen sie zu. Das Blutplasma hinderte die Spaltung der Cholesterinester durch den Leberextrakt anscheinend nicht. Beim Versuch mit dem defibrinierten Blute vom Hunde und dem Extrakte seiner Leber wurde der Prozeß, der voraussichtlich beim Blut allein zur Abnahme der Acetylzahl geführt hätte, anscheinend durch den in entgegengesetzter Richtung verlaufenden Prozeß der Cholesterinesterspaltung zufällig gerade kompensiert.

3. Digestion des Blutkörperchenbreies mit Cholesterinester.

Wenn somit das Blutplasma auf das Enzym der Leber auch keine Hemmungswirkung ausübte, so hätte immerhin die beim Gesamtblut vermißte Spaltung der Cholesterinester hervortreten können, wenn man die Blutkörperchen auf die Cholesterinester einwirken ließ. Um dies zu untersuchen, wurden die folgenden Versuche angestellt.

Methode der Untersuchung: Pferdeblut wurde unter Zusatz von 0,1% oxalsaurem Kalium aufgefangen. Nach etwa einer halben Stunde wurde das Plasma abgehoben. Die Blutkörperchen wurden mit Fluornatrium versetzt. Dann wurde zentrifugiert, das Plasma abgehoben, das gleiche Volumen 3,5%iger Kochsalzlösung zugegeben, zentrifugiert, abgehoben, noch einmal 3,5%ige Kochsalzlösung zugefügt und noch einmal zentrifugiert. 300 ccm des Blutkörperchenbreies wurden mit einer Emulsion versetzt, die 0,5 g Cholesterinoleat und 5 g einer Ölsäuremischung (9:1) in 30 ccm 1%iger Natriumcarbonatlösung enthielt, und sofort mit dem doppelten Volumen Alkohol gefällt.

Weitere 300 ccm wurden mit einer gleichen Emulsion versetzt und für 48 Stunden in den Brutschrank gestellt. Dann wurden auch sie mit dem doppelten Volumen Alkohol gefällt. Die weitere Verarbeitung war die oben beschriebene. Das Ergebnis war folgendes:

Vers.		Essigätherextrakt	NaOH[1])
1	Vor Digestion	2,9980	15,8
	Nach Digestion	2,9909	11,6
2	Vor Digestion	2,7850	16,6
	Nach Digestion	2,7856	10,8

[1]) 1 ccm = 7,6 mg KOH.

Die Acetylzahl nahm auch in diesen Versuchen nicht zu, sondern sehr deutlich ab. Eine Spaltung der Cholesterinester war also nicht nachweisbar.

4. Verhalten des Cholesterins bei der Autolyse der Blutkörperchen.

Um zu untersuchen, ob die Abnahme der Acetylzahl auf einer Abnahme von Cholesterin beruhte, wurde im Blutkörperchenbrei das Cholesterin vor und nach der Digestion bestimmt.

Methode der Untersuchung: Vom Oxalatblut wurde nach halbstündigem Stehen das Plasma abgehoben, die Blutkörperchen wurden mit Fluornatrium versetzt und zentrifugiert. Vom Blutkörperchenbrei wurde ein Teil mit Alkohol gefällt, der andere für 48 Stunden in den Brutschrank gestellt und dann ebenfalls mit Alkohol gefällt.

In den Versuchen 2 und 3 war das Blut vor der Digestion mit Sauerstoff gesättigt worden; es wurde während der Digestion geschüttelt.

Nach der ersten Fällung mit Alkohol wurde abgesaugt, in der früher beschriebenen Weise weiter mit Alkohol extrahiert und aus dem Alkoholextrakt der Essigätherextrakt hergestellt. Dieser wurde verseift und mit Petroläther ausgeschüttelt.

Tabelle III.

Vers.	Blutkörperchenbrei ccm	Essigätherextrakt	Cholesterin	Schmelzpunkt
1	500	a) 0,9833	0,7639	142° C
		b) 0,9800	0,7329	143 „
2	400	a) 0,6680	0,4188	144 „
		b) 0,7010	0,4178	144 „
3	450	a) 0,8196	0,5559	141 „
		b) 0,8453	0,5561	140 „
4	450	a) 0,7966	0,5236	142 „
		b) 0,8120	0,5200	142 „

Der Schmelzpunkt und das ganze Verhalten des Petrolätherrückstandes zeigte, daß er aus fast reinem Cholesterin bestand. Abgesehen vom ersten Versuch, bei dem vermutlich ein Beobachtungsfehler vorlag, nahm die Menge des Cholesterins bei der Autolyse der Blutkörperchen nicht ab.

5. Bilden sich bei der Digestion von Gesamtblut Oxysäuren?

Es wurden jetzt noch einmal Versuche mit Gesamtblut angestellt, bei denen, wie in den entsprechenden Versuchen mit Leber, Niere und Milz vor und nach der Digestion die Acetylzahl nicht nur im Essigätherextrakt bestimmt wurde, sondern auch in den Fettsäuren, die durch Fällung mit Baryt

aus dem Essigätherextrakt und durch Verseifung der in Alkohol löslichen, in Essigäther unlöslichen Bestandteile des Blutes gewonnen wurden. In Versuch 1 und 2 wurde ohne Zusatz, in Versuch 3 und 4 nach Zusatz der Cholesterinesterölemulsion digeriert.

Zu allen Versuchen diente Pferdeblut, das unter Zusatz von 1% Fluornatrium aufgefangen worden war. Die Dauer der Digestion betrug 48 Stunden.

Die Bestimmungen geschahen in der früher beschriebenen Weise. Die mit Baryt aus dem Essigäther gefällten Seifen wurden mit warmem Alkohol, nicht mit Äther gewaschen.

Tabelle IV.

Vers.	Blut ccm	Zusatz von Cholest. oleat.	Öl-öls.	Essig-äther-extrakt g	Essigäther-extrakt säurefrei g	NaOH ccm[1])	„Fett-säuren" g	NaOH ccm[1])
1	450	—	—	a) 0,6344	0,5893	7,9	0,3982	4,5
				b) 0,5363	0,5210	7,2	0,3521	2,7
2	500	—	—	a) 0,6532	0,6011	8,1	0,4129	5,5
				b) 0,6021	0,5902	7,7	0,4002	3,1
3	500	0,7	2,0	a) 2,9714	2,8697	35,0	1,0175	8,8
				b) 2,4954	2,3991	26,4	0,8086	5,6
4	500	0,7	2,0	a) 2.9988	2,8756	32,8	1,3188	12,4
				b) 2,6923	2,5934	27,2	0,9022	6,8

Wiederum nahm in allen Versuchen die Acetylzahl des Essigätherextraktes ab. Eine Spaltung des Cholesterinesters war also nicht nachweisbar. Auch die Acetylzahl der „Fettsäuren" nahm nicht zu. Es war also auch keine Bildung von Oxyfettsäuren zu erkennen. Das Blut unterscheidet sich somit sehr wesentlich von den anderen, bisher untersuchten Organen.

Sieht man sich nun weiter die Gewichte für den säurefreien Essigätherextrakt und die der „Fettsäuren" genauer an, so beobachtet man in allen Versuchen eine zum Teil gar nicht unbeträchtliche Abnahme. Diese Abnahme kann kaum anders erklärt werden als durch eine Oxydation der Fettsäuren bzw. von Oxyfettsäuren. Es ist sehr wohl möglich, daß diese auch im Blute bei der Autolyse entstehen, nur sind anscheinend im Blute die Bedingungen für ihre Oxydation verhältnismäßig günstiger als in den Extrakten von Leber, Milz und Nieren.

[1]) 1 ccm = 5,7 mg KOH.

Synergin, das Prochromogen des Atmungspigments der Weizenkeime.

Von

W. Palladin.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität St. Petersburg.)

(Eingegangen am 22. Juni 1910.)

Die Frage nach dem Verlauf der Oxydationsprozesse sowohl in pflanzlichen als auch in tierischen Organismen ist trotz der intensiven Bearbeitung, die sie in letzterer Zeit erfahren hat, von ihrer endgültigen Lösung noch weit entfernt. Mit voller Sicherheit ist nur bekannt, daß es für einen Organismus noch nicht genügt, mit Sauerstoff umgeben zu sein, um letzteren aufnehmen zu können. Zu diesem Zwecke muß er im Besitze eines komplizierten oxydierenden Apparats sein. Einen wichtigen Teil dieses Apparates machen die oxydierenden Fermente aus. Doch muß man im Auge behalten, daß diese Fermente nur ein Glied in der langen Kette der oxydativen Reaktionen darstellen, deren Endresultat die Entfernung der im Organismus vorhandenen Kohlenhydrate in Form von Kohlensäure und Wasser ist.

Wir besitzen zurzeit mehrere Theorien über den Verlauf der im Organismus stattfindenden Oxydationsprozesse. Man muß jetzt zur Ansammlung von Tatsachenmaterial übergehen, das noch sehr ungenügend ist. Schon vor längerer Zeit machte Reinke[1]) (und noch früher Schönbein) auf das Vorhandensein von oxydablen Stoffen im Pflanzenkörper aufmerksam. Doch fanden seine Arbeiten nicht die ihnen gebührende Beachtung. Der Grund dafür lag einerseits darin, daß leicht oxydierbare Stoffe nur in einigen Einzelfällen gefunden wurden.

[1]) Reinke, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 263, 1882; Botan. Zeitg. 1883, 65.

Dann wurde die Aufmerksamkeit der Forscher auf die oxydierenden Fermente gelenkt. Erst viel später wies ich die weite Verbreitung der leicht oxydablen Stoffe in den Pflanzen nach und nannte dieselben Atmungspigmente[1]) oder Phytohämatine. Zum Nachweis der pflanzlichen Atmungspigmente werden größere Pflanzenstücke in kochendes Wasser geworfen. Die vom Wasser gelösten Chromogene werden sodann durch Peroxydase mit Wasserstoffsuperoxyd oxydiert und liefern verschieden gefärbte Pigmente. In einigen Fällen gelingt es nicht, die Atmungspigmente auf diese Weise nachzuweisen. Dieser Umstand führte mich zu dem Schluß, daß die Atmungspigmente nur teilweise als Chromogene in den Pflanzen vorhanden sind, hauptsächlich aber und manchmal fast ausschließlich als Prochromogene.[2]) Im letzteren Fall ist es zum Nachweis der Atmungspigmente notwendig, die Prochromogene zuerst in Chromogene überzuführen. Das wird durch Autolyse erreicht. Bei der Autolyse in Chloroformwasser (nach der Methode von Salkowski) oder unter einer Glasglocke in Chloroformdämpfen (nach der Methode von Molisch) geht eine Spaltung des Prochromogens vor sich. Das dabei entstehende Chromogen wird aber durch die in den Pflanzen enthaltene Peroxydase zum Pigment oxydiert.

In der vorliegenden Arbeit habe ich es mir zur Aufgabe gestellt, die chemische Natur der Atmungspigmente aufzuklären. Die ersten Versuche wurden mit Weizenkeimen[3]) angestellt, in denen das Atmungspigment in großen Mengen als Prochromogen enthalten ist. Die für die Versuche notwendige Peroxydase gewann ich ebenfalls aus Weizenkeimen, in denen sie in großen Mengen enthalten ist. Von Emulsin, Taka-Diastase und Pepsin benutzte ich käufliche Präparate. Die Farbe der entstandenen Pigmente bezeichne ich nach der Tabelle von Saccardo.[4])

Die Weizenkeime gehören zu denjenigen Objekten, deren durch kochendes Wasser gewonnene Extrakte bei der Oxydation

[1]) W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 26a, 125, 378, 389, 1908; Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 207, 1908.

[2]) W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 27, 101, 109; diese Zeitschr. 18, 151, 1909.

[3]) Bezogen von Maggi, Stadtmühle, Zürich.

[4]) P. A. Saccardo, Chromotaxia seu nomenclator colorum. Editio altera. Patavii 1894.

durch Peroxydase und Wasserstoffsuperoxyd keine Pigmente liefern. In meinen ersten Arbeiten benutzte ich Meerrettichperoxydase und erklärte deshalb diese Unfähigkeit der wässerigen Weizenkeimauszüge zur Oxydation durch die Eigentümlichkeiten der Meerrettichperoxydase. Doch erwies es sich später, daß auch ihre eigene Peroxydase keine Oxydation hervorrufen kann. Dieses Resultat beweist, daß das Pigment in den Keimen nicht als Chromogen, sondern als Prochromogen enthalten ist. Zur Gewinnung des Pigments ist es notwendig, zuerst das Prochromogen zu spalten. Zu diesem Zweck wurde folgender Versuch gemacht: Der mit kochendem Wasser aus Weizenkeimen gewonnene Auszug wurde in 3 Portionen geteilt. Zu der ersten wurde Peroxydase, zu der zweiten Emulsin und zur dritten Emulsin + Peroxydase hinzugefügt. Zu allen 3 Kolben wurde auch Toluol[1]) zugesetzt und die Kolben verschlossen. Am zweiten Tage bildete sich in der dritten Portion ein rotes Pigment[2]), dessen Menge allmählich zunahm und nach einigen Tagen eine ziegelrote Farbe annahm (19. latericius). In den Kontrollportionen mit Peroxydase allein oder mit Emulsin allein entstand gar kein oder nur Spuren von Pigment nach einigen Tagen. Also wird das Prochromogen der Weizenkeime durch Wasser extrahiert und durch Emulsin unter Bildung eines Chromogens zersetzt, das durch Peroxydase ohne Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd oxydierbar ist.

In der nächsten Versuchsreihe wurden fein zerriebene Weizenkeime 3mal mit kochendem Äthylalkohol und dann 2mal mit Methylalkohol extrahiert. Dann wurden die extrahierten Keime in 4 Portionen zerteilt. Die erste wurde mit Wasser, die zweite mit Peroxydase, die dritte mit Emulsin und die vierte mit Emulsin und Peroxydase versetzt. Nur in der letzten Portion bildeten sich Spuren von Pigment. Spuren von Pigment wurden auch im wässerigen Auszug der extrahierten Keime nach Zusatz von Peroxydase und Emulsin erhalten. Kontrollversuche mit nicht extrahierten Keimen lieferten große Mengen von Pigment. Auf Wasser entstand das Pigment erst nach

[1]) Toluol wurde auch in allen folgenden Versuchen zugesetzt.

[2]) Eine Mischung von Peroxydase und Emulsin ohne Extrakt bildet kein Pigment.

10 Tagen. Mit Peroxydase und Emulsin dagegen bildete sich schon am nächsten Tage ein intensiv gefärbtes Pigment, das allmählich dunkel wurde (20. badius). Mit Emulsin allein bildete sich das Pigment auch schon am nächsten Tage. Das Prochromogen wird also aus den Keimen durch Äthyl- und Methylalkohol extrahiert.

Zur Abscheidung des Prochromogens von den übrigen, durch Alkohol aus den Weizenkeimen extrahierbaren Lipoiden wurde folgender Versuch angestellt. Die zerkleinerten Keime wurden im Kolben mit 2 Vol. Äthylalkohol 95° übergossen und einige Minuten auf dem Wasserbade gekocht. Dann wurde der heiße Alkohol abfiltriert. Das Filtrat trübt sich beim Erkalten unter Ausscheidung eines Niederschlages.

Da dieser Niederschlag eine Mischung verschiedener Stoffe darstellt, so ist es besser, zur Abscheidung des Chromogens Aceton zum heißen Alkohol zuzusetzen. Dadurch erhält man einen sehr voluminösen, lockeren, weißen Niederschlag (a) und ein Filtrat (b).

Der Niederschlag (a) wurde mit kochendem Methylalkohol bearbeitet. Die erhaltene Lösung wurde abfiltriert und wieder mit Aceton gefällt. Das Aceton wurde nicht bis zur vollkommenen Fällung zugesetzt. Dieser erste Niederschlag wurde mit Aceton gewaschen, zwischen Filtrierpapier abgepreßt und in Wasser gelöst (Portion 1).[1]) Zum Filtrat wurde wiederum Aceton zugesetzt und wieder ein zweiter Niederschlag erhalten, der ebenfalls in Wasser gelöst wurde (Portion 2). Das Filtrat vom zweiten Niederschlag ergab beim Stehen einen weißen, krystallinischen Niederschlag (Portion 3); das Filtrat von letzterem wurde bis auf ein geringes Volum eingedampft (Portion 4). Beim Bearbeiten des Niederschlages (a) mit heißem Methylalkohol blieb ein Teil ungelöst, der mit einer neuen Menge Methylalkohol erhitzt wurde. Der in Lösung übergegangene Teil wurde bis auf ein kleines Volum eingeengt (Portion 5), der zurückgebliebene Rückstand mit Wasser vermischt (Portion 6). Das Filtrat (b) ergab nach einigen Tagen einen krystallinischen Niederschlag (Portion 7), dessen Filtrat bis auf ein kleines Volum eingedampft wurde (Portion 8).

[1]) Zu allen Portionen der wässerigen Lösungen wurde immer Toluol zugesetzt, um Fäulnis zu verhüten.

Die Weizenkeime wurden nach der Bearbeitung mit kochendem Äthylalkohol wieder mit Methylalkohol versetzt und auf dem Wasserbade erhitzt. Im Filtrate bildete sich nach einiger Zeit ein Niederschlag (Portion 9), dessen Filtrat bis auf ein kleines Volum eingedampft und dann mit Aceton gefällt wurde.

Es wurde ein massiger Niederschlag (c) erhalten, der mit dem Niederschlag (a) identisch erschien. Dieser Niederschlag wurde wieder mit kochendem Methylalkohol bearbeitet, die Lösung vom ungelösten Rückstand abfiltriert, abgekühlt, wieder abfiltriert und behufs Reinigung mit Aceton gefällt. Der erhaltene Niederschlag wurde wieder mit Methylalkohol erhitzt. Die Lösung wurde vom ungelösten Rückstand abfiltriert (Portion 10) und wieder mit Aceton gefällt. Es wurde ein starker Niederschlag erhalten (Portion 11) und zum Filtrat wieder Aceton zugesetzt. Wiederum entstand ein weißer Niederschlag (Portion 12).

Es wurden also 12 Portionen erhalten, die auf ihren Prochromogengehalt untersucht wurden. Zuerst wurde die wässerige Lösung des Niederschlages (a) untersucht.

Zu einer Portion desselben wurde Emulsin, zur anderen Peroxydase, zur dritten Emulsin und Peroxydase hinzugefügt. In der 3. Portion entstand am 2. Tage eine rosa Färbung (17. roseus), die nach einigen Tagen in eine purpurrote, allmählich dunkler werdende überging (13. purpureus). In der 1. und 2. Portion wurde kein Pigment gebildet. Das Prochromogen der Weizenkeime wird also aus diesen mit Alkohol extrahiert, aus dem es durch Aceton gefällt wird.

Dann wurden alle 12 Fraktionen auf ihr Verhalten zum Emulsin + Peroxydase geprüft. Das Pigment entstand in folgenden:

2 (am meisten), 1, und auch in 10, 11, 12, in drei letzteren viel weniger. In allen diesen Portionen war derselbe Stoff, nur in verschieden reinem Zustand enthalten. In den Fraktionen 3, 4, 5, 6, 7 und 8 konnte dagegen kein Pigment nachgewiesen werden.

Um die Abhängigkeit der Pigmentbildung von der Sauerstoffabsorption nachzuweisen, wurden die wässerigen Lösungen

Portion 1 und 2 mit Emulsin und Peroxydase versetzt und mit einer Schicht Olivenöl bedeckt. Unter der Ölschicht bildete sich kein Pigment, in den Kontrollportionen dagegen war die Pigmentbildung intensiv.

Die Bildung des Pigments wird also von einer Absorption des Luftsauerstoffs begleitet.

Weizenkeime wurden mit kochendem Methylalkohol bearbeitet. Das Filtrat wurde mit Aceton gefällt. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst und ergab mit Emulsin und Peroxydase eine dunkelpurpurrote Färbung (zwischen 13. purpureus und 12. atropurpureus). Das Prochromogen wird also durch Methylalkohol extrahiert.

Weizenkeime wurden bei Zimmertemperatur mit Äther extrahiert. Der Auszug wurde verdunstet und mit Aceton gefällt.

Es entstand ein unbedeutender Niederschlag. Das Filtrat wurde verdampft und das Öl mit Wasser geschüttelt. Beide Portionen mit Emulsin und Peroxydase versetzt lieferten keine Spur von Pigment. Das Prochromogen der Weizenkeime wird durch Äther nicht extrahiert.

In allen Versuchen wandte ich außer Emulsin noch Taka-Diastase und Pepsin an. Das Pepsin ist nicht imstande, das Prochromogen der Weizenkeime zu zersetzen.

Taka-Diastase zersetzt ebenso wie das Emulsin das Prochromogen unter Bildung eines in Gegenwart von Peroxydase oxydierbaren Chromogens. Doch ist die Arbeit mit Taka-Diastase weniger bequem, da letztere selbst ein Chromogen enthält. Daher wird eine wässerige Lösung der Taka-Diastase beim Stehen bald dunkel gefärbt.

Bei der Autolyse der Weizenkeime in Chloroformwasser entsteht ein dunkelbraunes Pigment. Bei der Oxydation des isolierten Chromogens wird dagegen eine derartige Färbung niemals beobachtet; es entsteht vielmehr eine schöne purpurrote Färbung, die sehr langsam dunkler wird. Das beweist, daß das Chromogen kein oxydabler Stoff, sondern nur ein Sauerstoffüberträger ist.

Die bei der Autolyse zum Vorschein kommende braune Färbung rührt von den oxydablen Stoffen her. Zur Aufklärung der Sauerstoffübertragung mit Hilfe des Prochromogens machte ich folgenden Versuch: Ein Kontrollkolben wurde mit

einer Lösung des Prochromogens (Portion 1) mit Emulsin und Peroxydase beschickt. In den Versuchskolben befanden sich außer den erwähnten Stoffen im ersten Tyrosin, im zweiten Guajacol und im dritten Weizenkeime, die durch Kochen mit Äthylalkohol und Methylalkohol extrahiert waren. Nach 4 Tagen entstand im Kontrollkolben eine fleischrote Färbung (16. incarnatus). Eine gleiche Färbung wurde auch in den Kolben mit Tyrosin und Guajacol erhalten. Auf die genannten Stoffe ist also der Sauerstoff nicht übertragen worden. Im Kolben mit den extrahierten Weizenkeimen entstand eine ähnliche, ins Hellbraune spielende Färbung. In diesem Falle fand also eine Oxydation irgend eines Körpers statt. Zu solchen Versuchen darf man nicht Taka-Diastase anwenden, da diese allein schon Tyrosin oxydiert. So färbte sich eine wässerige Diastaselösung nach 4 Tagen olivenfarbig (39. olivaceus); beim Zusatz von Tyrosin wurde eine intensive schwarze Färbung (5. niger) erhalten.

Nebenbei sei bemerkt, daß durch gereinigte Peroxydase aus Weizenkeimen das Tyrosin nicht oxydiert wird. Der Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd oder Emulsin zur Peroxydase hat keine Wirkung. Eine Zugabe von Prochromogen (Portion 1) zu Weizenkeimen in Chloroformwasser scheint die Autolyse ihres eigenen Prochromogens aufzuhalten.

Um eine Vorstellung von der chemischen Natur der in Weizenkeimen enthaltenen Prochromogene zu gewinnen, wurde eine Reihe von verschiedenartigen organischen Verbindungen auf ihre Fähigkeit, Pigmente mit Emulsin und Peroxydase zu bilden, untersucht.

Folgende Stoffe ergaben negative Resultate: Aesculetin, Amygdalin, Apiin, Cholesterin, Crataegin, Cyclamin, Digitalin, Filicin, Galaktose, Inosit, Lecithin, Phytin, Quercitrin, Raffinose, Salicin, Saligenin, Solanin, Syringin, Tyrosin.

Ein positives Resultat wurde nur mit Arbutin erhalten, das eine rote Färbung lieferte, die aber der vom Chromogen erzeugten an Intensität nachstand.

Das Prochromogen hat, nachdem es durch wiederholtes Auflösen in kochendem Methylalkohol und Fällen mit Aceton möglichst gereinigt worden ist, folgende Eigenschaften. Aus den Lösungen wird es durch Aceton als ein lockerer, weißer, voluminöser

Niederschlag ausgeschieden, der beim Stehen unter Aceton in eine kompakte klebrige Masse zusammensinkt. An der Luft nimmt es begierig Wasserdämpfe auf und zerfließt. Es ist in Wasser leicht löslich, wobei eine Hydratisierung vor sich zu gehen scheint, da wässerige Lösungen durch Alkohol und Aceton schlecht gefällt werden. In der Asche wurde eine große Menge Phosphor, viel Calcium und wenig Eisen gefunden. In den wässerigen Lösungen sind dagegen die erwähnten Elemente ohne Veraschung nicht nachweisbar. Da durch fraktionierte Fällung eine phosphorfreie Fraktion zu erhalten nicht gelingt, so ist wahrscheinlich, daß die erwähnte Substanz ein Phosphatid ist. Fehlingsche Lösung wird nur nach vorhergehender Hydrolyse mit Schwefelsäure reduziert. Das Prochromogen der Weizenkeime ist also ein Phosphatid mit einer Kohlenhydratgruppe.

Die Untersuchungen Wintersteins[1]) und seiner Mitarbeiter haben die weite Verbreitung der Phosphatide mit Kohlenhydratgruppen im Pflanzenreich festgestellt. Da das von mir isolierte Prochromogen als ein vermittelndes Agens bei den intracellularen Oxydationsprozessen auftritt, so schlage ich vor, dasselbe Synergin zu nennen. S. Fränkel[2]) und seine Mitarbeiter haben gezeigt, daß viele Phosphatide der Tiere, wie z. B. das Kephalin[3]), die Fähigkeit zur Reduktion des Methylenblaus haben und folglich an den Reduktions- und Oxydationsvorgängen des Organismus teilnehmen. Darauf haben S. Fränkel und Dimitz[4]) eine „Theorie der Gewebsatmung durch Indermediärkörper" entwickelt. In den Pflanzen treten als solche Intermediärkörper die Atmungschromogene auf.

---

[1]) E. Winterstein und O. Hiestand, Zeitschr. f. physiol. Chem. 54, 288, 1908. — E. Winterstein, l. c. 58, 500, 1908. — E. Winterstein und K. Smolenski, l. c. 58, 506, 1909. — K. Smolenski, l. c. 58, 522, 1909. — E. Winterstein und Stegmann, l. c. 58, 527, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 9, 44; 16, 366, 378; 17, 68; 18, 37; 19, 254.

[3]) S. Fränkel und Neubauer, diese Zeitschr. 21, 321. — S. Fränkel und L. Dimitz, l. c. 21, 337.

[4]) S. Fränkel und L. Dimitz, Wiener klin. Wochenschr. 22, 1777, 1909.

Zur Frage der Wirkung der Salze auf die Atmung der Pflanzen und auf die Atmungsenzyme.

Von

W. Zaleski und A. Reinhard.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 25. Juni 1910.)

Die Frage nach dem Einfluß der Salze auf die Atmung der Pflanzen ist sehr verwickelt und schwer zu erforschen, weil der Atmungsprozeß aus einer Kette chemischer Reaktionen besteht und mit verschiedenen Lebenserscheinungen, die in der Zelle stattfinden, eng verbunden ist. Die Resultante der Wirkung des Salzes setzt sich aus einer Kombination der verschiedensten Faktoren zusammen, deren Bedeutung zu bestimmen bei unseren gegenwärtigen Kenntnissen kaum möglich ist, und wir müssen Schritt für Schritt gehen, um den Einfluß der Salze auf einzelne Momente des komplizierten Prozesses zu studieren.

In letzter Zeit sind viele Tatsachen gefunden worden, die zeigen, daß der Atmungsprozeß aus einer Reihe fermentativer Reaktionen besteht. Deswegen unterscheiden wir, indem wir den Einfluß der Salze auf die Atmung der Pflanzen untersuchen, einen direkten Einfluß derselben auf die Fermente von der indirekten Wirkung auf den Protoplast, der die letzteren erzeugt und ihre Tätigkeit koordiniert.

Die Salze können die Atmungsenzyme aktivieren oder ihre Wirkung paralysieren. Weiter können die Salze einen indirekten Einfluß auf die Arbeit der Atmungsenzyme ausüben, indem sie auf andere Fermente (Amylase, Protease usw.) wirken und dadurch den Charakter und die Quantität des Nährmaterials, sowie die Reaktion des Mediums verändern.

Endlich wirken die Salze auf den Protoplast, weil eine bestimmte Kombination derselben für die normale Fähigkeit

der Zelle notwendig ist und eine Veränderung dieser Kombination eine Disharmonie bedingt, die auf das Leben der Zelle und demzufolge auf die Atmung derselben einwirkt.

In der unlängst erschienenen Arbeit,[1]) die den Charakter einer orientierenden Untersuchung hatte, haben wir den Einfluß der einzelnen Nährsalze und Kombination derselben auf die Atmung der keimenden Samen studiert. Während eine bestimmte Kombination der Salze die Energie der Atmung der Keimpflanzen steigert, wirken die einzelnen Salze ihrem Charakter und der Natur der Pflanzen gemäß verschieden. So steigert Kaliumnitrat die Engerie der Atmung von Zea Mays und wahrscheinlich auch anderer Samen, die an Kohlenhydraten reich sind, auf Lupinus angustifolius aber übt es keinen Einfluß aus oder paralysiert sogar die Energie der Atmung. Einer von uns[2]) hat gezeigt, daß Kaliumnitrat verschieden auf die Umwandlung der Eiweißstoffe in den Samen, die reich an Kohlenhydraten (Weizen), und auf solche, die arm an diesen sind (Lupinus) wirkt. Das Kaliumnitrat wirkt wahrscheinlich auf die Amylase und proteolytische Fermente. In den ersten Stadien der Keimung stimulieren die Salze bei einer kurzdauernden Wirkung die Atmungsenergie nicht, nach dem Maximum aber der Atmungskurve bemerken wir bei denselben Bedingungen eine deutliche Steigerung der Atmungsenergie, und diese hängt nicht von dem Charakter des Salzes, sondern von seiner osmotischen Wirkung ab.

Eine Reihe der oben angeführten Fragen sind von uns in unserem Laboratorium in Untersuchung genommen, da aber die Publikation derselben nicht in nächster Zeit bevorsteht, so haben wir die Absicht, vorläufig jene Resultate anzuführen, die wir bis jetzt über die Frage der Wirkung der Salze auf die Atmungsfermente bekommen haben.

Das Studium der Salzwirkung auf die Atmungsenzyme wird dadurch erschwert, daß wir keine Methoden zum Isolieren der Fermente besitzen, wodurch wir bei dem Studium der Fermente der höheren Pflanzen verschiedene indirekte Methoden anzuwenden genötigt sind.

---

[1]) W. Zaleski und A. Reinhard, diese Zeitschr. 23, 1909.

[2]) W. Zaleski und W. Israilsky, diese Zeitschr. 24, 1910.

Die Untersuchungsmethoden der Atmungsenzyme sind von Buchner[1]) und von Palladin[2]) ausgearbeitet.

Die Methode von Buchner (Saft- und Acetonpräparate) ist, wie Palladin gezeigt hat, nicht immer bei dem Studium der Atmungsenzyme der höheren Pflanzen anwendbar, weil die letzteren reich an Wasser sind. Weiter zeigte Palladin, daß eine Zerstörung der anatomischen und cellularen Struktur sich schädlich auf die Arbeit der Atmungsenzyme äußert. Dieser Forscher hat zum Studium der Arbeit dieser Fermente vorgeschlagen, die Pflanzen mit einer niedrigen Temperatur um — 18 bis 20° zu töten und dann die Ausscheidung der Kohlensäure von den ganzen intakten Pflanzen zu studieren.

Diese Methode hat erlaubt, die abgetötete Pflanze unter denselben Bedingungen wie die lebende ohne Zerstörung der Struktur zu dem Versuche zu nehmen, weil die niedrige Temperatur schwach auf die Fermente wirkt. Anderseits kann man sich nicht nur mit dieser Methode begnügen, weil wir bei Zerstörung der Struktur die Arbeit der Fermente steigern, da wir sie und jene Stoffe, auf die sie wirken, in einen engeren Kontakt bringen.

In unseren Untersuchungen haben wir daher diese beiden Methoden nur mit einigen Variationen benutzt.

Wir wollen zuerst die Gefriermethode besprechen. Palladin[3]) hat gezeigt, daß die erfrorenen Pflanzen eine große Quantität der Kohlensäure in der Luft und der Wasserstoffatmosphäre ausscheiden, wobei in einigen Fällen die Mengen der von den lebenden und erfrorenen Objekten ausgeschiedenen Kohlensäure gleich sind. In anderen Fällen scheiden die erfrorenen Pflanzen sogar mehr Kohlensäure im Vergleich mit den lebenden aus. So hat Junitzky[4]) beobachtet, daß die erfrorenen Erbsensamen mehr Kohlensäure als die lebenden ausscheiden.

So z. B.

25 lebende Samen von Pisum = 3,8 mg CO_2 pro Stunde
25 erfrorene „ „ „ = 4,4 mg „ „ „

Man muß aber bemerken, daß der Unterschied sehr klein ist und durch die individuellen Abweichungen der Objekte erklärt werden kann. Im Versuche sind Durchschnittszahlen angeführt, wobei die erste aus

[1]) Buchner, Zymasegärung, 1903.
[2]) Palladin, diese Zeitschr. 18, 1909.
[3]) Palladin, l. c.
[4]) Junitzky, zitiert nach Palladin, Zeitschr. f. phys. Chem. 47, 1906.

einem 2stündigen und die zweite aus einem 3stündigen Versuche berechnet ist.

Welche Garantie gibt die Gefriermethode, wie sie von Palladin vorgeschlagen worden ist, daß die Objekte wirklich abgetötet sind, und wie wirkt das Erfrieren auf die Atmungsenzyme?

Den Tod der Objekte zeigen zuweilen äußere Merkmale, wie das Schwärzen der Blätter bei Vicia Faba und der Turgorverlust an. In anderen Fällen und besonders in Versuchen mit Samen ist diese Frage schwerer zu lösen. So kann man nach der Meinung von Kostytschew[1]) als Zeugnis des Todes der Erbsensamen die konstant bleibende Relation $CO_2 : C_2H_5OH$ an erfrorenen Objekten in der Luft und in Wasserstoff betrachten, da die lebenden Samen bei Luftzutritt nur eine sehr kleine Quantität von Alkohol bilden.

Der Autor zweifelt aber selbst, daß bei der von ihm angewandten Gefriermethode die Samen von Ricinus abgetötet waren. Später sagt N. Iwanoff[2]), daß man vom Töten der Pflanzen vermittels niedriger Temperatur (— 15 bis 20°) mit Bestimmtheit nicht reden kann.

Wir haben unsere ersten Versuche nach Palladins Methode ausgeführt. Die Pflanzen wurden in große Probiergläser eingeführt, die mit Kautschukstopfen verschlossen und mit Vaselin oder Paraffin beschmiert waren. Dann wurden die Probiergläser in eine Mischung von Schnee oder (meistens) fein zerhacktem Eis mit einer bestimmten Quantität von Natriumchlorid gestellt. Bald war die Temperatur bis auf — 20° gesunken, und dann wurde das Gefäß mit den Probiergläsern in freie Luft gestellt, wenn der Versuch im Winter während eines Frostes stattfand, oder im Keller stehen gelassen, wenn die Temperatur draußen eine höhere war. Am folgenden Tage wurden die Probiergläser herausgenommen, und nach dem Auftauen der Pflanzen wurden die letzteren zu dem Versuche benutzt. Wenn der Versuch mehrere Tage dauerte, so wurden täglich die Probiergläser in eine frisch bereitete Kältemischung eingebracht. Obgleich diese Mischung 2mal, zuweilen 3mal am Tage erneuert wurde, fiel doch ihre Temperatur bis zum Morgen des nächsten Tages bis zu — 3 bis 5°.

Unsere Versuche zeigen, daß die lebenden und die erfrorenen Samen gleich atmen. So z. B.:

1. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 5. II. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 6. II. entschält und in zwei Portionen geteilt. Die erste Portion wurde lebend zum Versuche genommen, die andere wurde erfrieren gelassen, und die Kohlensäureausscheidung wurde am folgenden Tage bestimmt.

---

[1]) Kostytschew, Untersuchungen über anaerobe Atmung der Pflanzen, 1907. Russische Arbeit.

[2]) N. Iwanoff, Bull. de l'Acad. d. Sc., Pétersbourg, VI. sér., 1910.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 16^0$.

Lebende Samen . . . . . = 17 mg
Erfrorene „ (24 St.)[1]) = 17 mg

2. Versuch.

Die Samen von Zea Mays wurden am 11. II. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 15. II. wurden sie zum Versuche genommen und nach dem Versuche erfrieren gelassen.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 15^0$.

Lebende Samen . . . . . = 3,4
Erfrorene „ (3 Tage) . = 3,4

3. Versuch.

Die Samen von Raps wurden am 14. II. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 15. II. wurde die eine Portion zum Versuche benutzt; die andere erfrieren gelassen und die Kohlensäureausscheidung am folgenden Tage bestimmt.

CO_2 für 30 g d. Samen pro Stunde in Milligramm.
Lebende Samen . . . . . = 8 ($t^0 = 15{,}5^0$)
Erfrorene „ (24 St.) . = 9 ($t^0 = 16^0$)

Ein längeres Erfrieren schwächt auch die Energie der Atmung nicht, wie aus folgenden Versuchen zu ersehen ist.

4. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 9. III. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 10. III. entschält und in drei Portionen geteilt. Die erste Portion wurde lebend, die zwei anderen nach dem Erfrieren zum Versuche genommen.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 16^0$.

Lebende Samen . . . . = 17
Erfrorene „ (5 St.) . = 18
„ „ (48 „) . = 17,5

5. Versuch.

Die Samen von Zea Mays wurden am 6. III. in destilliertem Wasser eingeweicht und am 8. III. erfrieren gelassen.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.
Erfrorene Samen (22 St.) = 3,5 ($t^0 = 15^0$)
„ „ (48 „) = 3,3 ($t^0 = 16{,}5^0$)
„ „ (96 „) = 3,5 ($t^0 = 16{,}5^0$)

Palladin und Kostytschew[2]) nehmen an, daß Erfrieren die Zymase von Lupinus tötet, während es auf die Zymase von Pisum

[1]) Diese und die unten folgenden Zahlen bedeuten die Erfrierensdauer.
[2]) Palladin und Kostytschew, Zeitschr. f. phys. Chem. 48, 1906.

keinen Einfluß ausübt. In letzter Zeit aber sagt Palladin[1]), daß keine Gründe vorliegen, um eine schädliche Wirkung der Kälte auf die Zymase anzunehmen. Zugunsten der letzten Meinung sprechen auch unsere oben angeführten Versuche.

Ein anderes Resultat erhalten wir, wenn wir die gequollenen Erbsensamen vor dem Erfrieren nicht entschälen.

6. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 23. III. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 24. III. wurden sie in zwei Portionen geteilt; die erste wurde zum Versuche genommen, die andere erfrieren gelassen und die Kohlensäureausscheidung am folgenden Tage bestimmt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16{,}5^0$.

Lebende Samen . . . . = 13,5
Erfrorene „ (24 St.) . = 25,5 } Differenz + 88%

7. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 29. III. in destilliertem Wasser eingeweicht und am 30. III. nicht entschält zum Versuche genommen. Dann wurden sie erfrieren gelassen und wieder zum Versuche genommen.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

Lebende Samen . . . . = 14,5 ($t^0 = 16{,}5^0$)
Erfrorene „ (5 St.) . = 23 ($t^0 = 16^0$) } Differenz + 58%

Wir sehen, daß beim Erfrieren nicht entschälter Samen die Atmungsenergie stark steigt, sogar auf 88%. Wie man es aus den Versuchen von Frl. Junitzky ersehen kann, hat sie die Samen nicht entschält, und wenn wir den Unterschied in ihrem Versuche nicht für einen Versuchsfehler halten wollen, so zeigen auch diese Versuche, daß die Schale die Erbsensamen vor dem Einflusse der Kälte schützt. Wenn man aber die nicht entschälten Erbsensamen eine längere Zeit erfrieren läßt, so ist der Unterschied sehr klein und liegt in den Grenzen des Versuchsfehlers. So z. B.:

8. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 26. III. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 27. III. wurden die nicht entschälten Samen erfrieren gelassen und am 30. III. zum Versuche benutzt. Parallel wurde die Ausscheidung der Kohlensäure von der lebenden Portion bestimmt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16{,}5^0$.

Lebende Samen . . . . . = 14,5
Erfrorene Samen (3 Tage) . . = 17

Dagegen atmeten die entschälten Erbsensamen schon nach 5stündigem Erfrieren ebenso stark wie nach 24stündigem Erfrieren. (4. Versuch.)

[1]) Palladin, Bull. de l'Acad. d. Sc., Pétersbourg, VI. sér., 1910.

Es scheint, daß bei Anwesenheit der Schale durch diese Methode die Objekte nicht getötet werden, und wir können die Steigerung der Atmungsenergie erfrorener Erbsensamen im Vergleich mit lebenden der Reizwirkung der Kälte zuschreiben. Wir haben die Absicht, später diesen Versuch bei einer tieferen und konstanteren Temperatur zu wiederholen.

Wenn wir zu den Keimlingen übergehen, so sehen wir, daß die erfrorenen Keimlinge viel weniger Kohlensäure als die lebenden ausscheiden. So z. B.:

9. Versuch.

Die Samen von Zea Mays wurden am 6. II. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zur Wasserkultur benutzt. Nach jedem Versuche wurde die zum Versuche genommene Portion der Samen erfrieren gelassen und am folgenden Tage bei denselben Temperaturbedingungen die Ausscheidung der Kohlensäure von den erfrorenen Objekten bestimmt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

t^0	Tag der Keimung	Lebende Keimlinge	Erfrorene Keimlinge
15	4.	3,4	3,4
16	10.	25,8	6,6
15,5	13.	25,8	5,8
15	20.	21,6	6,6

10. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 19. I. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 20. I. entschält und dann zu den Wasserkulturen benutzt. Jede Portion der Samen wurde vor dem Versuche erfrieren gelassen und die Kohlensäureausscheidung am folgenden Tage bestimmt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

t^0	Tag der Keimung	Erfrorene Keimlinge
16	2.	14,6
16	7.	8,2
15	9.	6,9
16	13.	4,9

Die erfrorenen Keimlinge von Zea Mays atmen viel schwächer als die lebenden, ebenso die Lupinus-Keimlinge, wenn wir die Zahlen aus unserer Arbeit[1]) in Betracht ziehen, und dabei atmen die erfrorenen Keimlinge immer schwächer, je größer der Unterschied zwischen der Größe der Keimlinge wird. Wenn wir sogar annehmen, daß die ganze von den erfrorenen Pflanzen ausgeschiedene Kohlensäure einer anaeroben Herkunft ist, so finden wir auch keine Übereinstimmung, weil die lebenden Keimlinge von Zea Mays und Lupinus angustifolius (wie es aus Ver-

[1]) W. Zaleski und A. Reinhard, l. c.

suchen, die wir in dieser Arbeit nicht anführen, hervorgeht) energisch im Wasserstoff atmen. In einigen Stadien atmen sie im Wasserstoff sogar ebenso energisch wie in der Luft.

Die erhöhte Ausscheidung der Kohlensäure bei der Keimung der Samen ist nicht der Vergrößerung der Quantität von Fermenten zu verdanken, weil die letzteren auch beim Töten vermittels der niedrigen Temperatur gewirkt hätten.

Nur in den Versuchen mit Erbsenkeimlingen gelingt es, eine gewisse Übereinstimmung in der Atmung der lebenden und erfrorenen Objekte zu bemerken. So z. B.:

11. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 29. III. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 30. III. entschält und am 1. IV. zu den Wasserkulturen benutzt. Nach jedem Versuche wurde die lebende Portion erfrieren gelassen und die Ausscheidung der Kohlensäure in der Luft und im Wasserstoff am folgenden Tage bestimmt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

t°	Tag der Keimung	Lebende Keimlinge Luft	Erfrorene Keimlinge Luft	Erfrorene Keimlinge Wasserstoff	t°
17	4.	41	42	—	16
17	7.	48	34	29	16
15	15.	28,3	23	18,3	15

In diesen Versuchen aber war die Erfrierungstemperatur höher als in den oben angeführten, und wir halten es für notwendig, diesen Versuch künftig zu wiederholen. Dies scheint uns desto interessanter, da ein Unterschied zwischen der Energie anaerober und aerober Atmung der erfrorenen Erbsenkeimlinge auftritt.[1])

Überhaupt tritt die Anaerobiose bei erfrorenen Pflanzen wegen des Austritts des Wassers aus den Protoplasten der Zelle in die Intercellularräume in den Vordergrund; infolge dessen gibt diese Methode oft die Möglichkeit, die anaeroben Prozesse separat von den Oxydationsreaktionen zu studieren.

Gehen wir jetzt zum Studium des Einflusses der Salze mit Hilfe der Gefriermethode über. Man kann schon a priori sagen, daß mit Hilfe dieser Methode bestimmte Resultate kaum zu erzielen sind. Wirklich bei der Keimung lebender Samen finden wir eine Kurve der Atmung, wie sie bei den erfrorenen Keimlingen von Zea Mays und Lupinus angustifolius nicht zu beobachten ist. Es kann sein, daß in den erfrorenen Pflanzen einige Glieder aus jener Kette chemischer Reaktionen ausfallen, die zur Bildung der Kohlensäure notwendig sind.

[1]) Junitzky, Journal botanique, Pétersbourg, 1906. Palladin, l. c.

In Wirklichkeit gelang es uns, zu zeigen, daß jene Salze, welche die Erhöhung der Atmungsenergie der Keimlinge während ihrer ganzen Kurve bewirken, keinen Einfluß auf die Atmung der erfrorenen Keimpflanzen ausüben.

In diesen Versuchen wurden die Keimlinge im Wasser und parallel in Salzlösungen kultiviert.

12. Versuch.

Verschiedene Mengen Samen von Zea Mays wurden am 6. II. in destilliertem Wasser und gleichzeitig in Salzlösungen eingeweicht, und dann zur Kultur in Wasser und in Salzlösungen benutzt. Nach jedem Versuche wurden alle Portionen der Samen erfrieren gelassen, und am folgenden Tage wurde wieder die Ausscheidung der Kohlensäure bestimmt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

t°	Tag der Keimung	Lebende Keimlinge			Erfrorene Keimlinge			t°
		H_2O	KNO_3 0,025 %	KH_2PO_4 0,025 %	H_2O	KNO_3 0,025 %	KH_2PO_4 0,025 %	
15	4.	3,4	3,6	3,5	3,4	4,4	3,5	16
16	10.	25,8	37,5	29,1	6,6	5,8	6,6	15
15,5	13.	25,8	45,6	31,6	5,8	6,6	7,5	15
16	20.	21,6	25,8	25,8	6,6	6,5	5,8	16

Ebenso hat in unseren früheren Versuchen[1]) das Calciumnitrat 0,05 % die Energie der Atmung der Keimlinge von Lupinus im Vergleich mit einer solchen der Kontrollpflanzen erhöht; bei den erfrorenen Keimlingen aber ist dieser Einfluß nicht zu finden, wie es aus folgendem Versuche zu ersehen ist.

13. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 29. I. in destilliertem Wasser und gleichzeitig in Salzlösungen eingeweicht, am 30. I. entschält und dann zu den Kulturen in: 1. Wasser, 2. KH_2PO_4 0,1 %, 3. $Ca(NO_3)_2$ 0,05 % benutzt. Vor dem Versuche wurden die Samen erfrieren gelassen.

CO_2 für 100 erfrorene Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

t°	Tag der Keimung	H_2O	KH_2PO_4 0,1 %	$Ca(NO_3)_2$ 0,05 %
16	6.	8,2	7,5	7,5
15	9.	6,9	7,8	6,9
15	13.	4,9	—	3,7

In Analogie mit diesen Tatsachen stehen die Beobachtungen von Palladin[2]), der gezeigt hat, daß Gifte die Energie der Atmung lebender Objekte stimulieren, auf die erfrorenen aber keinen Einfluß ausüben. So steigert sich unter

[1]) W. Zaleski und A. Reinhard, l. c.

[2]) Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 23, 1905.

der Wirkung von Chinin die Atmungsenergie der Keimlinge von Vicia Faba, die erfrorenen Objekte aber haben gleiche Quantitäten der Kohlensäure ausgeschieden, unabhängig, ob sie Chinin bekamen oder nicht. Den Überfluß der Kohlensäure, welchen die Pflanze unter der Giftwirkung ausscheidet, nennt Palladin „Reizkohlensäure". In unseren Versuchen aber haben die Salze keine Rolle von Reizen gespielt, da ihre Wirkung eine langdauernde war. Es ist möglich, daß diese Salze schädlich auf die Atmungsorgane gewirkt haben, und daß in der lebenden Pflanze diese schädliche Wirkung von dem Protoplasma reguliert wird. Man muß aber auch diese wahrscheinliche Voraussetzung aufgeben, weil sogar eine normale Steigerung der Atmung keimender Samen, die in der Atmungskurve zu merken ist, nicht bei den erfrorenen Objekten zu beobachten ist. Mit Hilfe dieser Methode können wir also nicht die Frage über die Salzwirkung auf die Atmungsenzyme lösen.

In den letzten Versuchen haben wir uns deswegen zur Methode der Zerstörung der anatomischen Struktur gewandt, weil diese Methode glänzende Resultate bei dem Studium verschiedener Fermente gegeben hat.

Man kann a priori in einzelnen Fällen verschiedene Resultate erwarten, weil bei dieser Methode die Bedingungen der Einwirkung der Atmungsenzyme sich infolge der Veränderung des Mediums und der gegenseitigen Beziehungen zwischen den verschiedenen Fermenten ändern. Palladin[1]) hat gezeigt, daß die Zerkleinerung der Weizenkeime zur Schwächung der Energie der Atmung führt, wobei dies bei lebenden, und bedeutender bei erfrorenen Objekten hervortritt. Der Verfasser hat intakte und zerriebene Weizenkeime ins Wasser gelegt, und deswegen kann man die Schwächung ihrer Atmungsenergie durch Extraktion der Nährstoffe oder Kofermente erklären, die sich gewiß bemerkbarer bei den getöteten Pflanzen macht. Um die Extraktion und die mit dieser verbundene Verminderung der Konzentration der aufeinander wirkenden Substanzen zu vermeiden, haben wir zu den Versuchen die zerkleinerten Objekte genommen, indem wir sie mit einer solchen Quantität des Wassers befeuchteten, daß sich ein dichter Brei bildete, den man leicht auf Papier schmieren und in den Atmungsapparat

[1]) Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 1906.

hineinbringen konnte. In anderen Versuchen wurden die Objekte im Mörser zerquetscht, und die erhaltene Masse wurde ebenso auf Papier eingetragen. Die letztere Methode wurde bei solchen Objekten angewandt, die man, wie z. B. gequollene Samen, ohne daß ein Saft heraustritt, zerquetschen kann. Zu den Versuchen wurden lebende und vorläufig durch Erfrieren oder Aceton getötete Objekte genommen.

14. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden 24 Stunden in destilliertem Wasser eingeweicht; gleichzeitig wurde eine andere Portion von Samen zerstoßen und dann mit Wasser befeuchtet.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

Unversehrte Samen	= 14,3	Differenz in %
Zerriebene Samen (Samenpulver) . .	= 30,3	+ 111

15. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden in destilliertem Wasser eingeweicht, am folgenden Tage wurde eine Hälfte derselben zerrieben und dann wurden beide Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16{,}5^0$.

Unversehrte Samen	= 17,5	Differenz in %
Zerriebene Samen	= 33,8	+ 91

16. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden in destilliertem Wasser eingeweicht, entschält und erfrieren gelassen; am folgenden Tage wurde die eine Hälfte der erfrorenen Samen zerrieben und dann wurden beide Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16{,}5^0$.

Erfrorene unversehrte Samen . . .	= 17	Differenz in %
Erfrorene zerriebene Samen	= 38,5	+ 126

17. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden in destilliertem Wasser eingeweicht und erfrieren gelassen; am folgenden Tage wurde die eine Hälfte der erfrorenen Samen zerrieben und dann wurden beide Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15{,}5^0$.

Erfrorene unversehrte Samen . . .	= 16,5	Differenz in %
Erfrorene zerriebene Samen	= 29,6	+ 79

18. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden in destilliertem Wasser eingeweicht und entschält; eine Hälfte der Samen wurde zerrieben und dann wurden beide Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

Unversehrte Samen	= 11,5	Differenz in %
Zerriebene Samen	= 32,5	+ 182

19. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden in destilliertem Wasser eingeweicht und entschält; eine Hälfte der Samen wurde zerrieben und dann wurden beide Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

Unversehrte Samen	= 7,5 = 7,5	Differenz in %
Zerriebene Samen	= 11 = 12	+ 46 + 60

20. Versuch.

Die Samen von Triticum wurden 2 Tage in destilliertem Wasser eingeweicht, eine Hälfte der Samen wurde zerrieben und dann wurden beide Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 50 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

Unversehrte Samen	= 6 = 6	Differenz in %
Zerriebene Samen	= 12 = 11	+ 100 + 83

21. Versuch.

Eine Portion der Weizenkeime wurde mit destilliertem Wasser befeuchtet, eine andere wurde vorher zerrieben; dann wurden beide befeuchteten Portionen zum Versuche benutzt.

CO_2 für 15 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

Unversehrte Weizenkeime	= 25,5	Differenz in %
Zerriebene Weizenkeime	= 22	— 13

22. Versuch.

Es wurden gut gewaschene Weizenkeime 1 Stunde in destilliertem Wasser eingeweicht, dann bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet und zum Versuche benutzt. Beide Portionen wurden vor dem Versuche mit 30 ccm Wasser befeuchtet.

CO_2 für 20 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

Unversehrte Weizenkeime	= 10	Differenz in %
Zerriebene Weizenkeime	= 3,5	— 65

23. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Samenpulver wurde 21 Stunden mit Aceton bearbeitet, getrocknet und zum Versuche benutzt. Gleichzeitig wurde eine Kohlensäurebestimmung von lebendem Samenpulver gemacht.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15{,}5^0$.

Lebendes Samenpulver . . . . = 13

Aceton-Samenpulver . . . . . = 11,5

24. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen, das Samenpulver wurde mit Aceton bearbeitet, (20 Stunden) getrocknet und zum Versuche benutzt. Gleichzeitig wurde die Kohlensäureausscheidung unversehrter Samen bestimmt.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 17{,}5^0$.

Unversehrte Samen . . . . . = 17

Aceton-Samenpulver . . . . . = 29,5

Die zerkleinerten Objekte, sowohl lebende wie auch vorläufig vermittels Aceton oder tiefer Temperatur getötete, scheiden bedeutend mehr Kohlensäure als die unversehrten aus.

Die Zerstörung der Struktur schwächt also die Energie der Atmung nicht. Nur die Weizenkeime atmen nach Zerkleinerung schwächer, wie es schon früher Palladin beobachtet hatte.

Unlängst ist die Arbeit von L. Iwanoff[1]) erschienen, der auch angibt, daß die zerkleinerten Samen mit Toluol mehr Kohlensäure als die unversehrten ausscheiden. Der Verfasser sagt, daß zu seinem Erstaunen das Pulver aus Samen energischer als die unversehrten Samen atmet. Dem Autor ist wahrscheinlich die Arbeit von Kolkwitz[2]) unbekannt geblieben, der gezeigt hatte, daß zerschrotene Gerstenkörner stärker als unversehrte atmen. Kolkwitz hat auch die Samen mit Toluol befeuchtet und eine energische Ausscheidung der Kohlensäure beobachtet.

Da wir bei Zerkleinerung der Objekte die Sauerstoffabsorption vergrößern und dadurch zu Oxydationsprozessen Anlaß geben, so haben wir auch einige Versuche mit der Atmung zerkleinerter Objekte in Wasserstoffatmosphäre ausgeführt.

25. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 26. III. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 27. III. entschält und erfrieren gelassen. Am 30. III. wurden sie zum Versuche benutzt. Wasserstoffstrom.

CO_2 für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16{,}5^0$.

Unversehrte Samen	= 16,5	Differenz in %
Zerriebene Samen	= 22	+ 33

[1]) L. Iwanoff, diese Zeitschr. 25, 1910.

[2]) Kolkwitz, Gerste-, Hopfen- und Kartoffelbau. 1901. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 19, 286, 1901.

26. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen, das Pulver wurde mit destilliertem Wasser befeuchtet, erfrieren gelassen und am folgenden Tage zum Versuche benutzt. Gleichzeitig wurde eine lebende Kontrollportion genommen. Anfangs wurde der Versuch in Luft, dann im Wasserstoff und wieder in Luft ausgeführt.

CO_2 für 50 g Pulver pro Stunde in Milligramm

$t^0 = 15^0$.

	Luft	Wasserstoff	Luft
Lebendes Pulver . . .	= 33	36	47
Erfrorenes Pulver. . .	= 38	20	37

27. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen; das Pulver wurde mit destilliertem Wasser befeuchtet und erfrieren gelassen. Am folgenden Tage wurde diese Portion zum Versuche benutzt. Gleichzeitig wurde das Pulver nicht erfrorener Objekte genommen. Anfangs wurde der Versuch im Wasserstoff und dann in Luft ausgeführt.

CO_2 für 50 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

	Wasserstoff	Luft
Lebendes Pulver . . .	= 36	43
Erfrorenes Pulver . . .	= 15	33

Die Atmung steigt bei Zerkleinerung der Objekte auch im Wasserstoff (25. Versuch), aber nicht so stark wie in der Luft; wenn die Atmung im Wasserstoff sich fortdauernd steigert (26. Versuch), so hängt dies wahrscheinlich von der vorherigen Sauerstoffabsorption ab.

Zu weiteren Versuchen haben wir Samenpulver benutzt, indem wir es mit Wasser und gleichzeitig mit Salzlösungen befeuchtet haben. In den meisten Fällen wurde das Pulver aus den lebenden Samen zum Versuche genommen, da aber die vermittels Erfrieren und Aceton abgetöteten Objekte sich gleich verhalten,[1]) so können wir in diesem Falle über den Einfluß der Salze auf Atmungsenzyme sprechen.

28. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit $MgSO_4$ 0,4%, 3. mit K_2CO_3 0,1% befeuchtet.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 18^0$.

H_2O	= 17,5
$MgSO_4$ 0,4%	= 15
K_2CO_3 0,1%	= 17,5

29. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit $Ca(NO_3)_2$ 1% befeuchtet.

[1]) Über diese Versuche werden wir später berichten.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 16{,}5^0$.

H_2O	= 16
$Ca(NO_3)_2$ 1%	= 5,5

30. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit KNO_3 0,5%, 3. mit $KHCO_3$ 1% befeuchtet.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 16{,}5^0$.

H_2O	= 14,5
KNO_3 0,5%	= 14
$KHCO_3$ 1%	= 17,5

31. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit KNO_3 1%, 3. mit KNO_3 2% befeuchtet.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 15^0$.

H_2O	= 12
KNO_3 1%	= 10
KNO_3 2%	= 5,5

32. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit KH_2PO_4 0,4% befeuchtet.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 16^0$.

H_2O	= 12,5
KH_2PO_4 0,4%	= 11,5

33. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit K_2CO_3 0,4%, 3. mit Citronensäure 0,2% befeuchtet.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.
$t^0 = 15^0$.

H_2O	= 12
K_2CO_3 0,4%	= 9,5
Citronensäure 0,2% . . .	= 6,5

Wir sehen, daß alle Salze, die als Bestandteile sich in der Knopschen Nährlösung befinden, die Energie der Atmung nicht stimulieren, vielmehr dieselbe schwächen. Zwar sind ziemlich starke Konzentrationen dieser Salze genommen worden; wir

haben aber die Absicht, diese Frage später ausführlicher zu erforschen.

Als besonders schädlich erweist sich die saure Reaktion, da 0,2% Citronensäure die Energie der Atmung schon um 100% schwächt. Auch die Alkalien schwächen die Energie der Atmung.

Wir wollen jetzt zum Studium der Wirkung von Phosphaten übergehen, weil die letzteren einen bedeutenden Einfluß auf die Gärung und die Atmung ausüben. So haben Wrublewski[1]) und Buchner[2]) gezeigt, daß die Phosphate die Gärung des Hefepreßsaftes stimulieren. Batelli[3]) und Thunberg[4]) heben den günstigen Einfluß der Phosphate auf die Atmung der Gewebe hervor. N. Iwanoff hat gefunden, daß die Phosphate die Energie der Atmung lebender, sowie auch vermittels Aceton oder Erfrieren abgetöteter Weizenkeime in der Luft und im Wasserstoff und die Energie der Atmung der Bohnenspitzen im Wasserstoff steigern. L. Iwanoff[5]) hat gefunden, daß beim Anfeuchten zerriebener Samen von Pisum mit alkalischem Natriumphosphat die Energie der Atmung sich vergrößert. Der Autor konstatierte auch eine vergrößerte Ausscheidung der Kohlensäure bei den zerriebenen Samen von Helianthus, Vicia sativa, Vicia Faba und Zea Mays, nachdem er ihnen Zucker zugeführt hatte. N. Iwanoff und L. Iwanoff sagen, daß die Phosphate die anaerobe CO_2-Ausscheidung stimulieren, wobei der letztere Autor meint, daß die Phosphorsäure einen direkten Anteil an diesem Prozesse der anaeroben Atmung nimmt.

Die Versuche von L. Iwanoff[5]) und die unseren, zu deren Beschreibung wir jetzt übergehen, wurden nach der schon früher von Kolkwitz[6]) beschriebenen Methode ausgeführt, wie aus folgenden Zeilen des Verfassers zu ersehen ist: „Solche zermahlenen Körner werden vielleicht in Zukunft ein kurzlebiges

[1]) Wrublewski, Journ. f. prakt. Chem. 64, 1901.

[2]) Buchner, Zymasegärung, 1903. — Buchner und Antoni, Zeitschr. f. phys. Chem. 46, 1905. — Buchner und Klatt, diese Zeitschr. 8, 1908.

[3]) Batelli und Stern, Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 3, 1. Hälfte.

[4]) Thunberg, zit. nach Chem. Centr. 1910, 11.

[5]) L. Iwanoff, l. c.

[6]) Kolkwitz, l. c.

Atmungspulver liefern können, das man mit Zuckerlösungen, Salzlösungen, alkalischen oder sauren Flüssigkeiten je nach dem beabsichtigten Zweck eines Versuches wird einweichen können."

Wenden wir uns nun zu den Versuchen mit Phosphatwirkung auf die Atmung; der Kürze wegen führen wir diese tabellarisch an.

Die Samen verschiedener Pflanzen wurden zermahlen und das Pulver 1. mit destilliertem Wasser und 2. mit Salzlösung befeuchtet und zum Versuche benutzt.

CO_2 für 25 bis 50 g pro Stunde in Milligramm.

Nr. des Versuches	t°	Samenpulver von Pisum sativum		Differenz in %
34	17	Samenpulv. aus lebend. Samen		
		CO_2 für 50 g pro Stunde		
		Wasser	29,5	
		Na_2HPO_4 1%	52	+ 76
35	16,5	Samenpulv. aus lebend. Samen		
		CO_2 für 50 g pro Stunde		
		Wasser	30	
		Na_2HPO_4 1%	56	+ 86
36	16	Samenpulv. aus den anfangs gequollenen und getrockneten Samen		
		CO_2 für 50 g pro Stunde		
		Wasser	31,5	
		Na_2HPO_4 1%	49	+ 55
37	17,5	Aceton-Samenpulver		
		CO_2 für 50 g pro Stunde		
		Wasser	29,5	
		Na_2HPO_4 1%	42	+ 42
38	16,5	Samenpulv. aus lebend. Samen		
		CO_2 für 25 g pro Stunde		
		Wasser	12,5	
		NaH_2PO_4 0,4%	11,5	− 8
		K_2HPO_4 0,5 „	19	+ 52
		K_2HPO_4 1,2 „	19	+ 52
		Na_2HPO_4 1 „	21	+ 68
39	15	Erfrorenes Samenpulver		
		CO_2 für 50 g pro Stunde		
		Wasser	24	
		Na_2HPO_4 1%	42	+ 75
40	17	Samenpulver von Erbsen		
		CO_2 für 50 g pro Stunde		
		Wasser	34	
		Na_2HPO_4 10%	19	− 44

(Fortsetzung der Tabelle von S. 466.)

Nr. des Versuches	t°	Samenpulver		Differenz in %
41	15	Samenpulver v. **Lupinus ang.**		
		CO_2 für 25 g pro Stunde		
		Wasser	5,5	
		Na_2HPO_4 1%	11,5	+ 109
42	16	Samenpulver von **Zea Mays**		
		CO_2 für 50 g pro 2 Stunden		
		Wasser	6,5	
		Na_2HPO_4 1%	11,5	+ 76
43	15,5	Samenpulver von **Triticum**		
		CO_2 für 25 g pro 2 Stunden		
		Wasser	7,5	
		Na_2HPO_4 1%	5,5	− 26
44	16	Samenpulver von **Triticum**	Erste 2 Stunden | Folgende 2 Stunden	
		CO_2 für 50 g pro 2 Stunden		
		Wasser	14,5 | 15,5	
		Na_2HPO_4 1%	11,5 | 15	
45	17	Samenpulver von **Triticum** Die Samen wurden zuerst in dest. Wasser eingeweicht, getrocknet und dann zermahlen		
		CO_2 für 25 g pro Stunde		
		Wasser	8	
		Na_2HPO_4 1%	7	− 12
46	15	Samenpulv. v. **Weizenkeimen**		
		CO_2 für 25 g pro Stunde		
		Wasser	22	
		Na_2HPO_4 1%	35,5	+ 61

Die zweibasischen Phosphate steigern bedeutend die Ausscheidung der Kohlensäure bei dem lebenden, erfrorenen und mit Aceton getöteten Pulver aus den Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte), Zea Mays und Lupinus angustifolius. Bei Triticum aber wird die Energie der Atmung nicht vergrößert, sondern sogar geschwächt. Dieses Resultat ist vielleicht durch die kurzdauernde Wirkung der Phosphate zu erklären, weil wir bei einer längeren Einwirkung derselben eine gleiche Kohlensäureausscheidung beobachteten, und es ist möglich, daß es in dem länger dauernden Versuche gelingen wird, den Einfluß von Phosphaten zu konstatieren.

Die sauren Phosphate schwächen die Ausscheidung der Kohlensäure infolge der sauren Reaktion.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß die große Schwächung der Atmungsenergie unter dem Einflusse des Calciumnitrats (29. Versuch) von dem Ausfällen des unlöslichen Calciumphosphats und dem dadurch bedingten Auftreten der sauren Reaktion abhängt.

Wir sehen also, daß nur die basischen Phosphate die Atmungsenzyme stimulieren, während andere Salze vielmehr ihre Tätigkeit herabsetzen.

In unseren früheren Versuchen[1]) haben wir gezeigt, daß die Salze der Nährlösung die Energie der Atmung keimender Samen vergrößern. So steigert Kaliumnitrat die Atmungsenergie der Keimlinge von Zea Mays und Calciumnitrat die Ausscheidung der Kohlensäure bei keimenden Samen von Lupinus angustifolius. Da diese Salze die Tätigkeit der Atmungsenzyme nicht stimulieren, vielmehr dieselbe schwächen, wie wir es oben gesehen haben, so hängt die Steigerung der Atmungsenergie keimender Samen unter dem Einflusse des einen oder anderen Salzes der Nährlösung nicht von der Wirkung desselben auf die Atmungsenzyme, sondern von anderen Ursachen ab. Andrerseits aber äußert sich der Einfluß der Nährsalze auf keimende Samen nicht vom Anfange der Keimung an, sondern erst in den späteren Stadien. Deswegen, um diese Frage vollkommen zu lösen, müssen wir den Einfluß dieser Salze auf die Atmungsenzyme nicht nur der Samen, sondern auch auf die der Keimlinge erforschen.

Oben haben wir gesehen, daß die Gefriermethode sich nicht als brauchbar zur Lösung dieser Frage erwies. Es wäre zu wünschen, auch hier zum Erforschen der Fermente die Zerstörung der Struktur anzuwenden.

Wie kann man diese Methode der Zerkleinerung bei den Keimlingen, die viel Wasser enthalten, anwenden? Wir sind folgendermaßen vorgegangen: Zuerst wurden die Keimlinge bei gewöhnlicher Temperatur oder im Thermostaten getrocknet und dann zu Pulver zermahlen. Das Pulver wurde mit Wasser befeuchtet, und der so erhaltene Brei wurde wie in den oben beschriebenen Versuchen auf Papier geschmiert.

---

[1]) W. Zaleski und A. Reinhard, l. c.

47. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden am 24. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 25. IV. entschält und dann zu den Wasserkulturen benutzt. Am 1. V. wurden die Keimlinge zum Trocknen gelegt und dann zermahlen, mit destilliertem Wasser befeuchtet und zum Versuche genommen.

CO_2 für 130 Samen pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

Das Pulver aus 130 Samen (Kontrollportion)	= 23	Differenz in %
„ „ „ 130 Keimlingen	= 32	+ 39

48. Versuch.

Die Samen von Triticum wurden am 4. V. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Wasserkulturen benutzt. Am 10. V. wurden die Keimlinge zum Trocknen gelegt, dann zermahlen, und das Samenpulver wurde zum Versuche genommen.

CO_2 für 680 Samen pro 2 Stunden in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

Das Pulver aus 680 Samen (Kontrollportion)	= 8	Differenz in %
„ „ „ 680 Keimlingen	= 10,5	+ 31

Wir sehen, daß das Keimlingpulver bedeutend stärker als ein solches der Samen atmet. Wir können also die Atmungsenzyme ebenso wie die anderen erforschen.

Wir teilen die von uns erhaltenen Resultate über den Einfluß der Salze auf die Tätigkeit der Atmungsenzyme der Keimlinge einstweilen nicht mit, weil diese, wie auch unsere Versuche mit dem Preßsafte der Samen und Keimlinge noch nicht zu Ende sind.

Die zerriebenen Samen stellen ein sehr bequemes Objekt zum Studium des Atmungschemismus und des Einflusses verschiedener Stoffe auf diesen Prozeß dar, im Vergleich mit den intakten Samen, die langsam verschiedene Stoffe absorbieren.

Wir können einstweilen 2 Versuche in dieser Richtung anführen.

Nach den Beobachtungen von Smirnoff[1]) schwächt salzsaures Chinin die Energie der Atmung der Erbsensamen schon am 2. Tage, sogar in der Konzentration 0,05%.

Tage	H_2O	Chinin
1	43,2	43,2
2	49,6	35,2
3	60,8	35,2

[1]) Smirnoff, Arbeiten der Naturforsch.-Ges. Petersburg, 35.

Dieses Resultat erscheint jedoch wenig wahrscheinlich, weil die Erbse zu den anaeroben Objekten, besonders in den ersten Stadien der Keimung gehört und da Chinin keine schädliche Wirkung auf die Zymase ausübt.

Außerdem ist es schwer, infolge einer schwachen Durchlässigkeit die schädliche Wirkung von Chinin während so kurzer Zeit anzunehmen. Unsere Versuche zeigen andere Resultate: Chinin in Konzentration von 0,06% schwächt nicht die Energie der Atmung, vielmehr stimuliert es dieselbe.

So z. B.:

49. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser, 2. mit Chinin 0,06% befeuchtet und zum Versuche benutzt.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

H_2O . . . . = 12

Chinin 0,2% = 13,5

Da Kohl[1]) behauptet, daß die Milchsäure, wie schon früher Buchner ausgesprochen hat, ein Zwischenprodukt bei der Gärung sei und daß milchsaures Natrium diese erhöht, so haben wir den folgenden Versuch angestellt.

50. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser und 2. mit milchsaurem Natrium 1% befeuchtet.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

H_2O . . . . . = 12

Milchsaures Na 1% = 8

Das milchsaure Natrium schwächt die Energie der Atmung stark.

Wir wollen jetzt zur Frage der Einwirkung der Phosphate auf die Atmungsenzyme zurückkehren.

Auf welches Stadium der Atmung wirken sie?

Um diese Frage zu lösen, haben wir folgende Versuche angestellt.

51. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser und 2. mit Na_2HPO_4 1% befeuchtet. Wasserstoffstrom.

CO_2 für 50 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

H_2O . . . . . = 35,5	Differenz in %
Na_2HPO_4 1% = 41	+ 15

[1]) Kohl, Beihefte z. Bot. Centralbl. 25, 1906.

52. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser und 2. mit Na_2HPO_4 1% befeuchtet. Wasserstoffstrom. Nach der Bestimmung der Atmung im Wasserstoff wurde der Luftstrom zugelassen.

CO_2 für 50 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

	Wasserstoffstrom	Luftstrom	Differenz in %
H_2O	= 30	39	+ 30
Na_2HPO_4 1%	= 38	63	+ 65

53. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser und 2. mit Na_2HPO_4 1% befeuchtet und erfrieren gelassen. Am folgenden Tage wurde das erfrorene Pulver zum Versuche benutzt. Wasserstoffstrom.

CO_2 für 50 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 15^0$.

H_2O	= 25	Differenz in %
Na_2HPO_4 1%	= 37	+ 48

54. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum (Viktoriasorte) wurden zermahlen und das Pulver wurde 1. mit destilliertem Wasser und 2. mit Na_2HPO_4 1% befeuchtet. Wasserstoffstrom. Nach der Bestimmung der Atmung im Wasserstoff wurde der Luftstrom zugelassen.

CO_2 für 25 g pro Stunde in Milligramm.

$t^0 = 16^0$.

	Wasserstoffstrom	Luftstrom
H_2O	= 19,5	24,5
Na_2HPO_4 1%	= 24,5	29,5

Die Phosphate steigern die anaerobe und aerobe Kohlensäureausscheidung, wobei, wie aus den oben beschriebenen Versuchen zu ersehen ist, diese Steigerung in der Luft 76 bis 85% und im Wasserstoff 15 bis 48% erreicht.

Die Erbsenzymase unterscheidet sich scheinbar von der Zymase der Hefe, was aus dem Einflusse der Salze zu ersehen ist. Übrigens ist diese Frage infolge des Unterschiedes in der Zusammensetzung des Mediums schwer zu lösen. Es ist schwer, ohne vorläufige Versuche zu entscheiden, von welcher Ursache die Steigerung des aeroben Prozesses durch Phosphate abhängt. Es ist möglich, daß die Anaerobiose das Material zu Oxydationsprozessen vorbereitet, weil nach einem vorläufigen Aufenthalte in Wasserstoff die Steigerung der Atmungsenergie nach Zusatz von Phosphaten eine höhere wird.

Andererseits aber ist es nicht zu bezweifeln, daß Phosphate die Oxydationsprozesse direkt stimulieren. Diesen Schluß kann man aus den in unserem Laboratorium ausgeführten und noch nicht publizierten Versuchen ziehen. Einige Daten aus diesen Versuchen wollen wir hier anführen.

Es erweist sich, daß zweibasische Phosphate auf alle Enzyme wirken, deren Tätigkeit mit den Atmungsprozessen eng verbunden ist.

So hat Fräulein Schklowsky gezeigt, daß Phosphate die Wirkung der Peroxydase steigern. Sie hat Oxydasewirkung, nach der ausgeschiedenen Quantität des Purpurogallins nach Pyrogallol- und Hydroperoxydzusatz bestimmt.

	Purpurogallin in Gramm, ausgeschieden durch Extrakt aus Erbsensamen
H_2O . . . . . = 0,0355	0,0355
0,5% K_2HPO_4 = 0,0602	—
1% Na_2HPO_4 = —	0,0592

Weiter hat Fräulein Rosenberg gezeigt, daß Phosphate auch die Katalase verschiedener Samen stimulieren. So z. B.:

Manometerstand in Millimeter Quecksilber nach 10 Minuten.

0,5 g Samenpulver von Lupinus angustifolius; 20 ccm Wasser, und 3 ccm 3% H_2O_2.

H_2O	= 10,0
Na_2HPO_4 1%	= 28,5

Weiter hat Fräulein Rabinowitsch gezeigt, daß Phosphate die Reduktion des Methylenblau stimulieren.

0,5 g Erbsenmehl reduziert 0,2 ccm 0,05% Methylenlösung

in Lösung	nach Minuten
H_2O	80
K_2HPO_4 0,5%	25
K_2HPO_4 1%	22
K_2HPO_4 2%	36
Na_2HPO_4 0,5% . . .	20
Na_2HPO_4 1%	15

Die Phosphate üben also nicht nur auf die Zymase einen stimulierenden Einfluß aus, sondern auch auf die Oxydasen, Katalasen und Reduktasen, indem wir diese vorläufig als Fermente bezeichnen.

Es bleibt bis jetzt der Anteil dieser Fermente in einzelnen Stadien des Atmungsprozesses sowie die Koordination derselben untereinander unbekannt, sie wirken aber alle in gleicher Richtung, was auf den Zusammenhang anaerober und aerober Atmungsprozesse hinweist. Zymasen und Reduktasen wirken

in dem Prozesse der anaeroben Atmung, Oxydasen und Katalasen in der aeroben Kohlensäureausscheidung, und man kann die Phosphate mit Wahrscheinlichkeit für Kofermente aller dieser Enzyme halten.

Es ist interessant den Zusammenhang zwischen der Quantität dieser Enzyme oder vielleicht zwischen der Energie ihrer Wirkung in einer Reihe von Samen zu verfolgen. Wir wollen einige Daten aus den Arbeiten der obengenannten Mitarbeiter anführen:

	Reduktasewirkung[1])	Katalasewirkung
Pisum sat.	480	10
Lupinus ang.	10	12
Zea Mays	0	50
Triticum	1	30

Wir wollen jetzt diese Objekte nach der Steigerung der Wirkung dieser Fermente anordnen:

Reduktase: Pisum > Lupinus > Triticum > Zea,

Katalase: Zea > Triticum > Lupinus > Pisum.

Wir beobachten zwischen Reduktase und Katalase eine umgekehrte Analogie. Zwischen der Reduktase und Anaerobiose existiert ein enger Zusammenhang, weil dieses Ferment in einer großen Quantität bei der Erbse und den Weizenkeimen (anaeroben Objekten) zu finden ist.

Weiter beobachten wir eine Ähnlichkeit in der Wirkung der Neutralsalze auf Reduktase, Katalase und Zymase, wie es aus den in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen zu sehen ist. Alle diese Salze schwächen die Tätigkeit dieser Fermente.

Wir sehen daraus, daß die Salze der Nährlösung keinen stimulierenden Einfluß auf die Atmungsenzyme ausüben und daß die in unseren früheren Versuchen beobachtete Stimulation der Atmung keimender Samen von anderen Ursachen abhängt.

Die Wirkung dieser Salze auf keimende Samen ist eine indirekte. Teils stimulieren die Salze der gewöhnlichen Nährlösung die Wirkung der hydrolytischen Fermente, die den Abbau der Eiweißstoffe und Kohlenhydrate usw. bedingen, teils beteiligen sie sich am Aufbau der Lebenselemente der Zelle.

Über diese Fragen gedenken wir etwas später zu berichten.

[1]) Diese Bestimmungen sind von Fräulein Anufrieff ausgeführt.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XII. Mitteilung.

Über eine neue Bildungsweise der β-Oxybuttersäure im Tierkörper.[1])

Von

E. Friedmann und C. Maase.

(Aus dem Laboratorium der I. med. Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 25. Juni 1910.)

Durch die Durchströmungsversuche von Embden[2]) und seinen Mitarbeitern und die Fütterungsversuche von Baer und Blum[3]) sind die Quellen, die im Tierkörper zur Acetessigsäure führen, im wesentlichen aufgedeckt worden. Über den weiteren Abbau der Acetessigsäure liegen jedoch keine experimentellen Tatsachen vor, die einen Einblick in die sich hier abspielenden Reaktionen erlauben würden.

Der erste Hinweis, daß der Abbau der Acetessigsäure, deren relativ leichte Verbrennlichkeit im Tierkörper schon ältere Fütterungsversuche ergeben hatten,[4]) experimentell zugänglich ist,

---

[1]) Die Resultate der Digestionsversuche mit Leberbrei sind in einem Vortrag, den der eine von uns (C. Maase) am 4. Februar 1910 in der physiologischen Gesellschaft zu Berlin gehalten hat, mitgeteilt worden. Über die Durchströmungsversuche ist von demselben im April 1910 auf dem Kongreß f. innere Medizin in Wiesbaden berichtet worden.

[2]) S. Embden, H. Salomon und Fr. Schmidt, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 129, 1906.

[3]) Julius Baer und Léon Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 55, 89, 1906; 56, 92, 1907.

[4]) L. C. Schwarz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 40, 185, 1898. — Geelmuyden, Untersuchungen über Acetonkörper. Skand. Arch. f. Physiol. 11, 114, 1900.

findet sich in Versuchen, die Embden und Michaud[1]) ausgeführt haben.

Embden und Michaud digerierten bei 37° Acetessigsäure mit verschiedenen Organbreien — in den meisten Fällen verwendeten sie Leberbrei — und stellten fest, daß hierbei eine ziemlich rasche und nicht unerhebliche Abnahme der dem Organbrei zugesetzten Acetessigsäure eintrat. Sie beobachteten ferner, daß auch die Menge des Gesamtacetons eine erhebliche Verminderung erfuhr. Der chemische Prozeß, der die Abnahme der Acetessigsäure zur Folge hat, konnte daher nicht in einer Spaltung der Acetessigsäure in Aceton und Kohlensäure bestehen:

$$CH_3.CO.CH_2.COOH \longrightarrow CH_3.CO.CH_3, \quad CO_2.$$

Dementsprechend hatte auch Sauerstoffzufuhr oder Vermischen des Organbreies mit frischem Blut keine vermehrte Zerstörung der Acetessigsäure zur Folge.

Embden und Michaud folgern aus diesen Versuchen mit Recht, daß die Zerstörung der Acetessigsäure im Organbrei nicht auf einen oxydativen Abbau der Acetessigsäure zurückzuführen ist. Sie führen das Verschwinden der Acetessigsäure auf einen durch Fermentwirkung hervorgerufenen Abbauvorgang der Acetessigsäure zurück, der möglicherweise der Säurespaltung des Acetessigesters analog zur Essigsäure führen könnte:

$$CH_3.CO.CH_2.COOH + H_2O = CH_3.COOH + CH_3.COOH.$$

Jedoch vermochten sie nicht Essigsäurebildung in ihren Versuchen nachzuweisen, halten es aber nicht für ausgeschlossen, daß dieser Nachweis mit einer verbesserten Methodik zu erbringen sei.

Vor kurzem haben Dakin und Wakeman[2]) unter ähnlichen Versuchsbedingungen wie Embden und Michaud die Resultate dieser Forscher bestätigen können. Auch sie beobachteten die Zerstörung der Acetessigsäure im Leberbrei unter Bildung von Produkten, die nicht Aceton waren, und stellten ebenfalls fest, daß diese Reaktion von Oxydation begünstigenden

[1]) Gustav Embden und Louis Michaud, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 332, 1908.

[2]) A. J. Wakeman und H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 373, 1909.

Faktoren nicht zu beeinflussen war. Sie neigen wie Embden und Michaud der Ansicht zu, daß das Verschwinden der Acetessigsäure auf einer hydrolytischen Säurespaltung der Acetessigsäure beruhe. Der Versuch, Essigsäure durch Destillation des Organbreies mit Phosphorsäure nachzuweisen, gab zwar negative Resultate, indessen gelang es ihnen nach Aufspaltung des Organbreies mit Schwefelsäure, in einigen der digerierten Portionen Essigsäure zu erhalten.

Für die Abnahme der Acetessigsäure beim Digerieren mit Leberbrei scheint außer der hydrolytischen Spaltung der Acetessigsäure noch eine andere Möglichkeit in Betracht zu kommen. Diese ergibt sich aus den Versuchen von Neubauer[1]), der den Übergang einer aromatischen α-Ketonsäure, der Benzoylameisensäure, durch asymmetrische Reduktion in l-Mandelsäure feststellte, und ferner aus der Beobachtung des einen von uns,[2]) daß auch eine β-Ketonsäure, die Benzoylessigsäure, in ganz analoger Weise durch asymmetrische Reduktion l-Phenyl-β-oxypropionsäure liefert:

$$C_6H_5.CO.COOH \longrightarrow l\text{-}C_6H_5.CH(OH).COOH,$$
$$C_6H_5.CO.CH_2.COOH \longrightarrow l\text{-}C_6H_5.CH(OH).CH_2.COOH.$$

Es lag daher nahe, die Möglichkeit einer derartigen Reduktion auch für die aliphatischen β-Ketonsäuren in Betracht zu ziehen und die Abnahme der Acetessigsäure beim Digerieren mit Leberbrei auf die Entstehung von l-β-Oxybuttersäure durch asymmetrische Reduktion der Acetessigsäure zurückzuführen.

Diese Vermutung haben wir sowohl in Durchströmungsversuchen wie in Digestionsversuchen bestätigen können.

Wir beginnen mit der Beschreibung der Durchströmungsversuche.

I. Bildung von β-Oxybuttersäure bei der Leberdurchblutung.

Zur Durchblutung wurden Hundelebern verwendet. Die Hunde hatten 24 Stunden vor dem Versuch gehungert. Sie wurden anfangs in der üblichen Weise durch Öffnen der Arteriae femorales in Chloroform-Äthernarkose getötet. Da die Entblutung aus den Schenkelarterien jedoch häufig recht lange

[1]) Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 246, 1909.
[2]) E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 119, 1910.

dauert und auch meistens unvollständig ist, wurden die Tiere später durch einen Hammerschlag gegen die Stirn betäubt; darauf wurde der Hals bis auf die Wirbelsäule durchschnitten. Auf diese Art erfolgt die Entblutung außerordentlich rasch und vollständig.

Als Durchblutungsflüssigkeit diente frisches, defibriniertes Rinderblut, dem unmittelbar vor der Durchblutung die zu prüfende Substanz zugesetzt wurde. Meist wurde die Substanz in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst und zu 750 ccm Rinderblut hinzugegeben. In je 150 ccm dieser Mischung, die in den Tabellen als Normalblut bezeichnet ist, wurde Aceton und Acetessigsäure bestimmt.

Die Durchblutung wurde mit 500 ccm Normalblut in dem von dem einen von uns angegebenen Apparat[1]) ausgeführt.

Die Durchblutungszeit schwankte zwischen 90 und 120 Minuten. Je nach der Menge der zurückgewonnenen Durchströmungsflüssigkeit, die in den Tabellen als D-Blut bezeichnet ist, wurden zur Aceton- und β-Oxybuttersäurebestimmung 100 bis 150 ccm verwendet.

Zur Acetonbestimmung wurde die Durchblutungsflüssigkeit nach Schenk enteiweißt, eine abgemessene Menge des Filtrats destilliert und im Destillat das Aceton jodometrisch bestimmt.

Für die β-Oxybuttersäurebestimmung wurde das Blut mit dem 6 fachen Volumen 93%igen Alkohols gefällt, der Niederschlag sorgfältig abgepreßt und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wurde mit verdünnter Natronlauge aufgenommen, die schwach alkalische Lösung durch Schütteln mit Äther vom Fett befreit, darauf mit 25%iger Phosphorsäure angesäuert und 12 Stunden im Extraktionsapparat extrahiert. Der Ätherrückstand wurde gewogen, mit kaltem Wasser auf 25 ccm aufgefüllt, die Lösung mit Tierkohle geschüttelt, filtriert und im 2-dcm-Rohr polarisiert.

Wir prüften zunächst, ob die Leber ohne Zusatz einer Acetessigsäure liefernden Substanz β-Oxybuttersäure bei der Durchströmung zu bilden vermag. Die Tabelle I gibt die gewonnenen Resultate.

Ohne Zusatz einer Acetessigsäure liefernden Substanz findet also, wie die die Tabelle I zeigt, in drei Fällen

[1]) E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 87, 1910.

(Versuch 1, 3 und 4) eine nicht unerhebliche Bildung von β-Oxybuttersäure statt, während in Versuch 2 eine Bildung von β-Oxybuttersäure ausblieb.

In der Tabelle II sind die Resultate zusammengestellt, die bei der Leberdurchblutung nach Zusatz von acetessigsaurem Natrium erhalten worden sind.

Tabelle I.

Leerdurchblutungen.

Nr. des Versuchs	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Acetessigsäure in 500 ccm N-Blut mg	Acetessigsäure in 500 ccm D-Blut mg	Neugebildete Acetessigsäure mg	Gebildete β-Oxybuttersäure mg	Die gebildete β-Oxybuttersäure entspricht Acetessigsäure mg
1	500 ccm Rinderblut	147	93	14,8	55,3	40,5	65,0	63,7
2	500 ccm Rinderblut	134,5	90	29,1	62,4	33,3	0	0
3	500 ccm Rinderblut	189,5	90	11,3	49,1	37,8	70,0	68,6
4	500 ccm Rinderblut	147,5	90	15,76	47,38	31,62	110,7	108,5

Tabelle II.

Durchblutungen mit acetessigsaurem Natrium.

Nr. des Versuchs	Durchblutungsflüssigkeit	Acetessigsäure in 500 ccm N-Blut (berechnet) g	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Acetessigsäure in 500 ccm N-Blut (bestimmt) mg	Acetessigsäure in 500 ccm D-Blut mg	Verschwundene Acetessigsäure mg	Gebildete β-Oxybuttersäure mg	Die gebildete β-Oxybuttersäure entspricht Acetessigsäure mg
5	500 ccm einer Mischung aus: 700 ccm Rinderblut, 30 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium, 70 ccm Wasser, 0,8 g Kochsalz	1,88	181	95	1873	1024	849	544,2	533,7
6	500 ccm einer Mischung aus: 750 ccm Rinderblut, 35 ccm einer Lösung von acetessigsaurem Natrium, 15 ccm Wasser, 0,4 g Kochsalz	1,98	187	120	1977	868	1115	484,0	474,6

Aus der Tabelle II ist ersichtlich, daß ebenso wie in den Digestionsversuchen mit Leberbrei, auch in den Durchströmungsversuchen der Leber mit acetessigsaurem Natrium eine recht erhebliche Abnahme der dem Blut zugesetzten Acetessigsäure stattfindet. Im Versuch Nr. 5 beträgt die Abnahme der Acetessigsäure 849 mg und im Versuch Nr. 6 sogar 1115 mg. Dieser Verlust an Acetessigsäure wird zum Teil durch das Auftreten von β-Oxybuttersäure im Durchblutungsblut gedeckt, und zwar entspricht die gebildete β-Oxybuttersäure im Versuch Nr. 5 62,6% und im Versuch Nr. 6 42,5% der zerstörten Acetessigsäure.

Tabelle III.

Durchblutungen mit buttersaurem Natrium.

Nr. des Versuchs	Durchblutungsflüssigkeit	Buttersäure g	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Acetessigsäure in 500 ccm N-Blut mg	Acetessigsäure in 500 ccm D-Blut mg	Neugebildete Acetessigsäure mg	Gebildete β-Oxybuttersäure mg	Die β-Oxybuttersäure entspricht Acetessigsäure mg
7	500 ccm einer Mischung aus: 750 ccm Rinderblut, 2 g buttersaurem Natrium, 50 ccm Wasser, 0,4 g Kochsalz	1,03	125	92	7,7	210,5	202,8	139	136,3
8	500 ccm einer Mischung aus: 750 ccm Rinderblut, 2 g buttersaurem Natrium, 50 ccm Wasser, 0,4 g Kochsalz	1,03	135	90	11,2	105,0	103,8	92,54	90,8
9	500 ccm einer Mischung aus: 750 ccm Rinderblut, 2 g buttersaurem Natrium, 50 ccm Wasser, 0,4 g Kochsalz	1,03	241	90	17,4	96,20	78,8	139	136,3

In einer weiteren Versuchsreihe haben wir uns über die Größe der β-Oxybuttersäurebildung bei Durchblutung mit solchen Substanzen zu orientieren versucht, deren Übergang in Acetessigsäure im Durchströmungsversuch bereits früher festgestellt

war. Wir wählten hierzu die Buttersäure als wichtigsten Repräsentanten der normalen Fettsäuren und die Isovaleriansäure als Beispiel für die β-verzweigten Fettsäuren. In der Tabelle III sind die Versuche mit Buttersäure, in Tabelle IV die Versuche mit Isovaleriansäure wiedergegeben.

Sowohl nach Durchblutung mit Buttersäure wie nach Durchblutung mit Isovaleriansäure ist im Durchblutungsblut eine recht beträchtliche Bildung von β-Oxybuttersäure nachzuweisen, die besonders in den Versuchen mit Isovaleriansäure auffallend hoch ist.

Tabelle IV.

Durchblutungen mit isovaleriansaurem Natrium.

Nr. des Versuchs	Durchblutungsflüssigkeit	Isovaleriansäure g	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Acetessigsäure in 500 ccm N-Blut mg	Acetessigsäure in 500 ccm D-Blut mg	Neugebildete Acetessigsäure mg	Gebildete β-Oxybuttersäure mg	Die gebildete β-Oxybuttersäure entspricht Acetessigsäure mg
10	500 ccm einer Mischung aus: 740 ccm Rinderblut, 2 g Isovaleriansäure, 1,04 g Na_2CO_3, 60 ccm physiol. NaCl-Lösung	1,25	203,5	90	8,27	177,8	169,53	275	269,7
11	500 ccm einer Mischung aus: 750 ccm Rinderblut, 2 g Isovaleriansäure, 1,04 g Na_2CO_3, 50 ccm physiol. NaCl-Lösung	1,25	310,0	93	10,9	92,9	82,0	259,0	254,0
12	500 ccm einer Mischung aus: 750 ccm Rinderblut, 2 g Isovaleriansäure, 1,04 g Na_2CO_3, 50 ccm physiol. NaCl-Lösung	1,25	239,5	90	17,4	63,8	46,4	0	0

Die Größe der β-Oxybuttersäurebildung ist in den Durchströmungsversuchen aus der Größe der Linksdrehung des

ätherischen Extraktes der Durchblutungsflüssigkeit berechnet worden. Der Nachweis, daß die linksdrehende Substanz tatsächlich β-Oxybuttersäure ist, wurde durch ihre Überführung in Krotonsäure erbracht.

Die Lösungen der β-Oxybuttersäure aus den verschiedenen Durchblutungsversuchen wurden vereinigt und gemeinsam auf Krotonsäure verarbeitet. Im einzelnen enthielten die Lösungen an β-Oxybuttersäure aus:

Acetessigsäure . .	253,8 mg,
Isovaleriansäure .	118,0 „
Buttersäure . .	128,6 „
Leerdurchblutung	26,0 „

so daß im ganzen 526,4 mg β-Oxybuttersäure (aus der Linksdrehung berechnet) zur Verfügung standen. Die vereinigten Lösungen wurden mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt, mit 200 g konzentrierter Schwefelsäure versetzt und unter Ersatz des verdampfenden Wassers destilliert, bis etwa 150 ccm Wasser übergegangen waren. Das Destillat wurde mit 10%iger Sodalösung neutralisiert, auf etwa 15 ccm eingeengt und nach Zusatz von 10 ccm 25%iger Phosphorsäure 8 Stunden im Extraktionsapparat mit Äther extrahiert. Nach Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein Rückstand, der fast augenblicklich zu nadelförmigen Krystallen erstarrte. Seine Menge betrug 0,227 g. Er zeigte sofort den für die Krotonsäure angegebenen Schmelzpunkt von 73 bis 74°. Denselben Schmelzpunkt zeigte reine, käufliche Krotonsäure, sowie eine Mischprobe dieser mit der durch Destillation gewonnenen Substanz. Da die Ausbeute an Krotonsäure aus der aus der Linksdrehung berechneten β-Oxybuttersäure 52,2% beträgt, dürfte die Berechtigung, die linksdrehende Substanz als β-Oxybuttersäure anzusprechen, erwiesen sein.

II. Bildung von β-Oxybuttersäure beim Digerieren von Leberbrei mit acetessigsaurem Natrium.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Wir entnahmen Hunden, die möglichst vollständig entblutet waren, unmittelbar nach dem Tode des Tieres und so rasch wie möglich die Leber und zerkleinerten sie in der Fleisch-

maschine oder durch Zerreiben mit Glas. Der so gewonnene Organbrei wurde auf mehrere Pulverflaschen in gewogenen Mengen verteilt. Eine Portion wurde mit einer abgemessenen Menge einer frisch bereiteten Lösung von acetessigsaurem Natrium von bekanntem Gehalt und mit einer abgemessenen physiologischen Kochsalzlösung versetzt. Die Kontrollprobe wurde mit der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung beschickt.

Unter öfterem Schütteln wurden die verschlossenen Flaschen eine bestimmte Zeit bei 37° im Brutschrank belassen. Nach Beendigung des Versuchs wurde das Gemisch mit dem 6fachen Volumen Alkohol gefällt. Die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit wurde nach 24stündigem Stehen filtriert, der Niederschlag durch ein Tuch gepreßt und die Kolatur nochmals filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden bis auf wenige Kubikzentimeter Flüssigkeit eingedampft. Diese wurde mit verdünnter Natronlauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und durch Ausschütteln mit Äther entfettet, darauf mit Phosphorsäure angesäuert und im Ätherextraktionsapparat 12 Stunden extrahiert. Der Ätherrückstand wurde gewogen — sein Gewicht betrug stets nur wenige Dezigramm — und mit so viel kaltem Wasser versetzt, daß das Gewicht der Lösung 20 g betrug. Die trübe Lösung wurde durch Schütteln mit Tierkohle in der Kälte geklärt und darauf polarisiert.

In den aseptisch durchgeführten Versuchen wurde die Leber steril entfernt, in sterilen und erwärmten Reibschalen mit Glas zerrieben oder in der sterilisierten Fleischmaschine zerkleinert. Der sterile Leberbrei wurde dann auf die verschiedenen sterilisierten und erwärmten Flaschen verteilt, in der beschriebenen Weise beschickt und verarbeitet. Die Versuchsdauer betrug $5^1/_2$ bis $8^1/_2$ Stunden.

Die Tabelle V gibt die Resultate der unter aseptischen Bedingungen durchgeführten Versuche.

Wie aus der Tabelle V ersichtlich ist, geht in den Ätherextrakt des mit acetessigsaurem Natrium versetzten Organbreies eine linksdrehende Substanz über, während die nur mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Kontrollproben einen optisch inaktiven Ätherauszug liefern. Einmal trat in letzterem eine geringe Rechtsdrehung auf. Die Linksdrehung bewegt sich zwischen

0,3 bis 0,7°. Unter der Voraussetzung, daß die ganze Linksdrehung auf der Anwesenheit von l-β-Oxybuttersäure beruht, berechnet sich eine Bildung von l-β-Oxybuttersäure von 136 bis 292 mg.

Tabelle V.

Nr. des Versuchs	Leberbrei g	Zusätze	Zugesetzte Acetessigsäure g	Versuchsdauer St.	Drehung Grad	Gebildete β-Oxybuttersäure mg
13a	100	85 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,16	$5^1/_2$	−0,41	170,4
13b	50	100 ccm physiol. NaCl-Lösung	—	$5^1/_2$	±0	—
14a	100	100 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,16	$8^1/_2$	−0,23	136,8
14b	50	50 ccm physiol. NaCl-Lösung	—	$8^1/_2$	+0,05[1])	—
15a	100	85 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,22	8	−0,7	292,0
15b	50	50 ccm physiol. NaCl-Lösung	—	8	±0	—
16a	75	89 ccm physiol. NaCl-Lösung, 11 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,93	$7^3/_4$	−0,42	174,1

In der Tabelle VI sind die Versuche, die unter antiseptischen Bedingungen ausgeführt worden sind, zusammengestellt. Als Antisepticum diente Toluol und Fluornatrium. In 2 Versuchen wurde zur Kontrolle der Reduktionswert des Leberbreies für Acetessigsäure unter aseptischen Bedingungen festgestellt, um Anhaltspunkte zu gewinnen, ob der Zusatz von Antisepticis die Größe der Reduktion beeinflußt.

[1]) Im 1-dm-Rohr polarisiert.

Tabelle VI.

Nr. des Versuchs	Leberbrei g	Zusätze	Zugesetzte Acetessigsäure g	Versuchsdauer St.	Drehung Grad	Gebildete β-Oxybuttersäure mg
17a	100	85 ccm physiol. NaCl-Lösung, 13 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium, 2 ccm Toluol	1,0	24	+0,1	—
17b	100	98 ccm physiol. NaCl-Lösung, 2 ccm Toluol	—	24	+0,1	—
18a	50	40 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium, 1 ccm Toluol	0,94	5½	−0,17	70,4
18b	70	60 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,94	5½	−0,4	165,8
19a	100	90 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium, 2 g Fluornatrium	0,94	5½	−0,3	124,4
19b	100	90 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,94	5½	−0,4	165,8

Auch unter antiseptischen Bedingungen findet in zwei Versuchen (18a und 19a, Tab. VI) eine nicht unerhebliche Bildung einer linksdrehenden, ätherlöslichen Substanz statt. Von den beiden geprüften Antisepticis beeinträchtigt Fluornatrium in einer Konzentration von 1% die Bildung der linksdrehenden Substanz nur unwesentlich (19a, Tabelle VI), dagegen scheint Toluol in der gleichen Konzentration die Reaktion erheblich zu hemmen (18a, Tabelle VI), so daß unter Umständen (17a, Tabelle VI) überhaupt keine Linksdrehung im Ätherextrakt beobachtet werden kann.

In einer weiteren Versuchsreihe haben wir geprüft, ob der Leberbrei durch Erwärmungen die Fähigkeit verliert, Acetessigsäure unter Bildung einer linksdrehenden, ätherlöslichen Substanz zu zerstören. Sowohl nach Aufkochen wie nach $^1/_2$stündigem Erhitzen des Leberbreies auf 56° konnte nach Zusatz von acetessigsaurem Natrium zum Leberbrei eine Linksdrehung im Ätherauszug nicht beobachtet werden, während im Ätherextrakt der nicht aufgekochten oder nicht erwärmten Proben eine erhebliche Linksdrehung festgestellt werden konnte. Die Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle VII niedergelegt.

Tabelle VII.

Nr. des Versuchs	Leberbrei g	Zusätze	Zugesetzte Acetessigsäure g	Versuchsdauer St.	Drehung Grad	Gebildete β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
15a	100	85 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,22	8	— 0,7	292,0	
15c	100	85 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,22	8	± 0	—	aufgekocht
20a	75	110 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,28	$8^1/_2$	— 0,5	207,3	
20b	53	110 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,85	$7^1/_2$	± 0	—	$^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt
19b	100	90 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,94	$5^1/_2$	— 0,4	165,8	
19c	100	90 ccm physiol. NaCl-Lösung, 10 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	0,94	5	± 0	—	$^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt

Ebenso wie durch Erhitzen die Wirkung des Leberbreies auf Acetessigsäure aufgehoben wird, scheint durch längeres Liegen der Leber nach dem Tode des Tieres die Fähigkeit des Leberbreies, Acetessigsäure unter Bildung einer linksdrehenden Substanz zu zerstören, aufgehoben zu sein. Diese Beobachtung steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Embden und Michaud, die ebenfalls darauf aufmerksam machen, daß ein Verschwinden der Acetessigsäure beim Digerieren mit Leberbrei nur bei Verwendung lebensfrischer Organe festzustellen ist.

Die Resultate beim Verarbeiten von Kalbslebern, die vom Schlachthaus bezogen waren und 24 Stunden nach dem Tode des Tieres für die Digestionsversuche verwendet wurden, sind in der Tabelle VIII wiedergegeben.

Tabelle VIII.

Nr. des Versuchs	Leberbrei (Kalbsleber) g	Zusätze	Zugesetzte Acetessigsäure g	Versuchsdauer St.	Drehung Grad	Gebildete β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
21a	100	100 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,3	6	±0	—	
21b	50	50 ccm physiol. NaCl-Lösung	—	6	±0	—	
21c	117	117 ccm physiol. NaCl-Lösung, 15 ccm der Lösung von acetessigsaurem Natrium	1,3	6	±0	—	aufgekocht

Der Nachweis, daß die linksdrehende Substanz, die bei der Zerstörung der Acetessigsäure durch Leberbrei auftritt, β-Oxybuttersäure ist, wurde durch ihre Überführung in Krotonsäure erbracht.

Mehrere der optisch aktiven wässerigen Lösungen, die zusammen etwa 1 g β-Oxybuttersäure (aus der Linksdrehung berechnet) enthielten, wurden vereinigt und mit so viel Schwefelsäure versetzt, daß der Gehalt der Flüssigkeit an Schwefelsäure 50% betrug. Bei der Destillation ging eine stark sauer re-

agierende Flüssigkeit über, die im Extraktionsapparat mit Äther erschöpft wurde. Nach Verdunsten des Äthers hinterblieben 0,44 g Rückstand, der beim Stehen krystallinisch erstarrte. Die Substanz bildete nadelförmige Krystalle oder prismatische Blättchen. Ihr Schmelzpunkt lag scharf bei 72° (unkorr.). Eine Mischprobe mit Krotonsäure ergab keine Depression des Schmelzpunktes.

Die Überführung der linksdrehenden Substanz, die aus Acetessigsäure beim Digerieren mit Leberbrei entsteht, in Krotonsäure, ergibt die Berechtigung, diese Substanz als β-Oxybuttersäure anzusprechen.

Sowohl in Durchströmungsversuchen der Leber wie in Digestionsversuchen mit Leberbrei haben wir den Nachweis führen können, daß Acetessigsäure in l-β-Oxybuttersäure durch asymmetrische Reduktion übergeführt wird. Die Substanz, die diesen Übergang vermittelt, weist in ihren Eigenschaften recht erhebliche Analogien zu dem Verhalten der Fermente auf. So haben wir in den Digestionsversuchen zeigen können, daß sie durch längeres Liegen und durch Erwärmen schon auf 56° zerstört wird und durch Antiseptica in ihrer Wirkung beeinträchtigt wird. Wir bezeichnen daher diesen Körper, der die Reduktion der Acetessigsäure zu l-β-Oxybuttersäure vermittelt, unter Anlehnung an die übliche Nomenklatur der Fermente als Ketoreduktase.

Der Einwand, daß die Bildung der β-Oxybuttersäure in den Leberbreiversuchen nicht auf der Wirkung eines spezifischen Organfermentes beruhe, sondern möglicherweise durch die Lebenstätigkeit von Bakterien hervorgerufen sei, wird durch die Bedingungen, unter denen diese Reaktion stattfindet, mit größter Wahrscheinlichkeit widerlegt.

So spricht gegen einen bakteriellen Prozeß der Umstand, daß nur lebensfrische Organe zur Bildung von β-Oxybuttersäure befähigt sind. Bei Verwendung von 24 Stunden alter, sicherlich stark mit Bakterien verunreinigter, vom Schlachthaus bezogener Kalbsleber unterblieb die Reduktion der Acetessigsäure. Auch die Versuchsergebnisse von Embden und Michaud sprechen gegen die bakterielle Natur des Prozesses, da sie feststellen konnten, daß die Abnahme der Acetessigsäure etwa

15 Minuten nach Versuchsbeginn am größten ist und mit Zunahme der Digestionszeit geringer wird. Lebensfrisch entnommene Organe hatten nach 24stündigem Aufbewahren auf Eis das Vermögen, Acetessigsäure zu zerstören, völlig eingebüßt. Wäre der Prozeß bakterieller Natur, so wäre gerade das umgekehrte Verhalten zu erwarten.

Auch die unter antiseptischen Bedingungen erhaltenen Resultate sind mit der Möglichkeit, daß die Bildung von β-Oxybuttersäure aus Acetessigsäure auf Bakterienwirkung zurückzuführen ist, kaum zu vereinen, da die Reduktion der Acetessigsäure sowohl bei Gegenwart von Fluornatrium in 1%iger Konzentration, wie bei Gegenwart von Toluol deutlich nachzuweisen war.

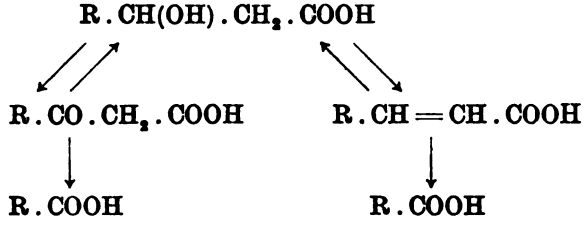
Wir haben uns ferner in direkten Versuchen überzeugt, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen eine erhebliche Bakterienwirkung nicht stattfindet. Auf Agarplatten, die mit dem digerierten Organbrei gegossen wurden, gingen nur ganz vereinzelte, oberflächliche Kolonien auf.

Während wir in den Digestionsversuchen mit Leberbrei die Wirkung von Bakterien nur mit größter Wahrscheinlichkeit ausschließen können, ist diese Möglichkeit für die Durchströmungsversuche nach allen bisherigen Erfahrungen wohl mit völliger Sicherheit abzulehnen.

Die Größe der Reduktion der Acetessigsäure ist, wie die Durchströmungsversuche zeigen, eine auffallend hohe. So konnten im Versuch Nr. 5 62,6% und im Versuch Nr. 6 42,5% der zerstörten Acetessigsäure als β-Oxybuttersäure nachgewiesen werden. Diese Beobachtung führt notwendigerweise zu der Schlußfolgerung, daß ein wesentlicher Teil des Abbaues der Acetessigsäure über die Zwischenstufe der β-Oxybuttersäure erfolgt. Da nun andererseits β-Oxybuttersäure durch die überlebende Leber zu Acetessigsäure oxydiert wird, so ergibt sich die Frage, welcher von den beiden Prozessen — Oxydation oder Reduktion — unter physiologischen Verhältnissen die Oberhand gewinnt. Hält man sich an die bisher ermittelten Tatsachen, so ist zu betonen, daß Dakin und Wakeman[1]) in ihren besten Versuchen nur etwa 60 mg Acetessigsäure durch

[1]) A. J. Wakeman und H. D. Dakin, l. c.

Oxydation von β-Oxybuttersäure erhalten konnten, während in unseren Versuchen 136,8 bis 292 mg β-Oxybuttersäure durch Reduktion der Acetessigsäure pro 100 g Leber gebildet wurden. Die Bedingungen für die Reduktion der Acetessigsäure scheinen also günstiger zu liegen als die Bedingungen für die Oxydation der β-Oxybuttersäure. Danach würde sich der Abbau zahlreicher Fettsäuren nicht, wie bisher angenommen wurde, nach der Frage des Abbaues der Acetessigsäure, sondern in einem wesentlichen Anteil zur Frage nach dem Abbau der β-Oxybuttersäure auflösen. Sollte sich zeigen lassen, daß das Schema der Zwischenprodukte, das der eine von uns für die Verknüpfung der Abbauprodukte der Phenylpropionsäure aufgestellt hat,[1]) etwa im Sinne folgender Gleichungen:



allgemeiner Übertragung fähig ist, so wäre auch der Weg gegeben, nach welcher Richtung der weitere Abbau der β-Oxybuttersäure zu suchen wäre. Mit Versuchen nach dieser Richtung sind wir beschäftigt.

Von teleologischen Gesichtspunkten könnte man allerdings die Zweckmäßigkeit einer Einrichtung in Zweifel ziehen, nach der eine Substanz im Tierkörper durch Oxydation in eine zweite Substanz übergeführt wird und aus dieser durch Reduktion zurückgebildet wird. Die Verfolgung dieses Gedankenganges würde zu den beiden Fragen führen, welche Bedeutung kommt der Oxydation einer Substanz zu, deren Abbau doch zu einem wesentlichen Teile über das ursprüngliche Reduktionsprodukt erfolgt, und ferner, wenn selbst zugegeben wird, daß die Oxydation zu einem Nebenprodukt führt, wie ist es zu erklären, daß der Tierkörper in so ausgiebigem Maße zur Reduktion gerade dieses Nebenproduktes befähigt ist?

---

[1]) E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 125, 1910.

Die Beantwortung der ersten Frage bietet kaum eine Schwierigkeit, da die Vorstellung, daß die Oxydationsmittel des Tierkörpers auch zur direkten Oxydation von Hydroxylgruppen herangezogen werden können, durch zahlreiche Beobachtungen gestützt werden kann. Aber selbst innerhalb dieser Tatsachen ist hervorzuheben, daß die Oxydation von Hydroxylgruppen im Tierkörper gewissen Beschränkungen unterliegt. So liefert zwar Phenylmilchsäure [1]) Homogentisinsäure, p-Oxyphenylmilchsäure dagegen nicht, während p-Oxyphenylbrenztraubensäure [2]) in Homogentisinsäure übergeht; ferner kann p-Chlorphenylbrenztraubensäure im Tierkörper zu p-Chlorphenylessigsäure abgebaut werden, während bei der p-Chlorphenylmilchsäure diese Oxydation nicht eintritt.[3]) Danach wäre die Oxydation der β-Oxybuttersäure zu Acetessigsäure der Ausdruck des auch sonst nachweisbaren Vermögens des Tierkörpers, Hydroxylgruppen zu oxydieren, und die Tatsache, daß diese Oxydation eine unvollständige ist, findet eine ausreichende Erklärung in der nachweislichen Beschränkung dieser Reaktion im Tierkörper.

Für die andere Frage, wie es zu erklären ist, daß der Tierkörper gerade zur Reduktion der Acetessigsäure in so ausgiebigem Maße befähigt ist, würde eine ausreichende physiologische Erklärung gefunden sein, wenn sich zeigen ließe, daß der Abbau bestimmter aliphatischer Fettsäuren zur Acetessigsäure führt, ohne die Zwischenstufe der β-Oxybuttersäure zu durchlaufen. Nach den Untersuchungen des einen von uns [4]) wäre hier in erster Linie an die β-verzweigten Säuren und in analoger Weise an die aromatischen Substanzen, die Homogentisinsäure liefern, zu denken. Über Versuche, die nach dieser Richtung angestellt worden sind, soll demnächst berichtet werden.

---

[1]) Otto Neubauer und W. Falta, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 87, 1904.

[2]) Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 229, 1909.

[3]) E. Friedmann und C. Maase, diese Zeitschr. 27, 97, 1910.

[4]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 365, 1908.

Über die N-Methylderivate des Phenylalanins und des Tyrosins.

Von

E. Friedmann und S. Gutmann.

(Aus dem Laboratorium der I. med. Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 25. Juni 1910.)

In Verfolgung der Versuche des einen von uns[1]) über das Verhalten der methylierten Aminosäuren im Tierkörper haben wir Veranlassung genommen, auch die aromatischen methylierten Aminosäuren, die den in den Eiweißkörpern vorkommenden aromatischen Aminosäuren entsprechen, das N-Methyl-phenylalanin und das N-Methyl-tyrosin darzustellen.

Zur Gewinnung des N-Methyl-phenylalanins gingen wir von der nach der Vorschrift von Emil Fischer[2]) bereiteten Phenyl-α-brompropionsäure aus und setzten diese mit 33%igem, wässerigem Methylamin zum N-Methylphenylalanin um:

$$C_6H_5.CH_2.CH(Br).COOH \longrightarrow C_6H_5.CH_2.CH(NH.CH_3).COOH.$$

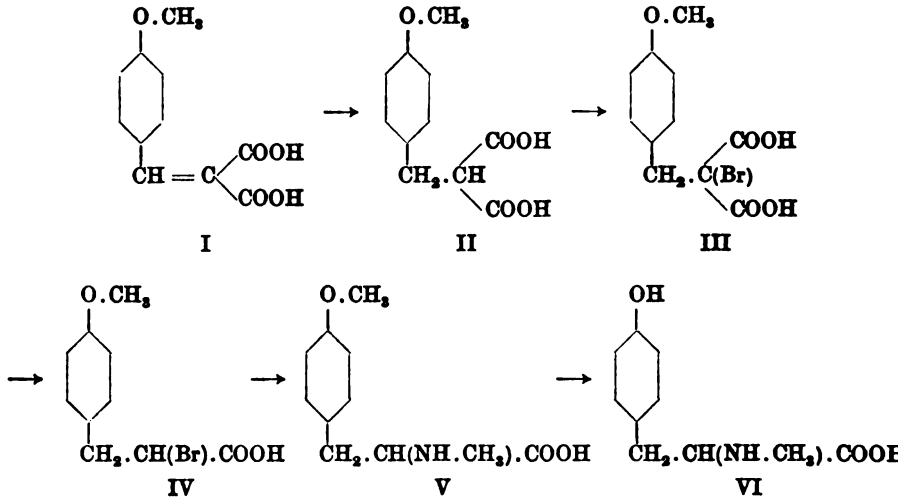
Für die Darstellung des N-Methyltyrosins haben wir einen etwas längeren Weg einschlagen müssen. Wir kondensierten Anisaldehyd mit Malonsäure nach der Methode von Knoevenagel[3]) bei Gegenwart von etwas Isoamylamin zur Anisalmalonsäure (I) und reduzierten diese mit Natriumamalgam zur Hydro-anisalmalonsäure (II), die wir durch Bromierung in ätherischer Lösung in α-Brom-hydro-anisalmalonsäure (III) überführten. Durch Erwärmen auf 120 bis 130° lieferte die α-Brom-

[1]) E. Friedmann, Beitr. z. chem. Physiol. u. Phathol. 11, 158 und 177, 1908.

[2]) Emil Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 3062, 1909.

[3]) E. Knoevenagel, Adolf Winther, Patente 1, 88, 1908.

hydro-anisalmalonsäure p-Methoxy-phenyl-α-brompropionsäure (IV), aus der durch Einwirkung von 33%igem, wässerigem Methylamin p-Methoxy-phenyl-α-methylamino-propionsäure (V) erhalten wurde. Diese Verbindung lieferte bei der Verseifung mit Bromwasserstoffsäure N-Methyltyrosin (VI):



Das N-Methyltyrosin beansprucht biochemisches Interesse, da es möglicherweise mit dem Surinamin identisch ist, einer Substanz, die Hüttenschmid[1]) aus einer Reihe exotischer Papilionaceen gewonnen, und für die Hiller[2]) die Zusammensetzung eines Methyltyrosins ermittelt hat. Nach den Versuchen, die H. Blau[3]) auf Veranlassung von E. Winterstein ausgeführt hat, liefert Surinamin bei der Kalischmelze p-Oxybenzoesäure und beim Erhitzen auf 230 bis 250° einen Körper, dessen Platinchloriddoppelsalz den Platingehalt eines Oxyphenyläthylamin-Platindoppelsalzes hatte. Einen direkten Vergleich des N-Methyltyrosins mit dem Surinamin haben wir nicht ausführen können, da uns dieses seltene Naturprodukt nicht zur Verfügung stand, und wir den Arbeiten des Züricher agrikultur-chemischen Laboratoriums nicht vorgreifen wollten.

---

[1]) Hüttenschmid, Magazin f. Pharmacie 7, 287.
[2]) Hiller, Arch. f. Pharm. 230, 513.
[3]) H. Blau, Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 153, 1908.

Experimenteller Teil.

I. N-Methyl-phenylalanin.

$C_6H_5.CH_2.CH(NH.CH_3).COOH.$

50 g Phenyl-α-brompropionsäure werden unter Kühlung mit 60 ccm 33%igen, wässerigen Methylamins übergossen. Nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur ist die Reaktionsflüssigkeit krystallinisch erstarrt. Die Krystallmasse wird noch 3 Wochen sich selbst überlassen, darauf in einer Reibschale mit 200 ccm absolutem Alkohol verrieben und abgesaugt. Die Mutterlauge liefert bei wiederholtem Einengen dieselben Krystalle. Die Menge des Rohproduktes beträgt 30,9 g. Zur Analyse wird es aus der 20fachen Menge heißen Wassers umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1572 g Substanz: 0,3887 g CO_2, 0,1097 g H_2O,
0,2095 g „ 14,85 ccm N (23,3°, 761 mm).
$C_{10}H_{13}NO_2$. Ber.: C 67,00, H 7,31, N 7,84.
Gef.: C 67,42, H 7,81, N 8,05.

Methyl-phenylalanin krystallisiert in 3seitigen Blättchen. Es sublimiert von 252 bis 254° unter geringer Zersetzung.

II. Synthese des N-Methyltyrosins.

Als Ausgangsmaterial für die Darstellung des N-Methyltyrosins diente die Anisalmalonsäure, die nach der Methode von Knoevenagel durch Kondensation von Anisaldehyd mit Malonsäure bei Gegenwart von etwas Isoamylamin leicht zugänglich ist. Bei der Reduktion mit Natriumamalgam lieferte die Anisalmalonsäure Hydro-anisalmalonsäure.

Hydro-anisalmalonsäure.

$CH_3.O.C_6H_4.CH_2.CH.(COOH)_2.$

30 g Anisalmalonsäure werden in 70 ccm 15%iger Natronlauge gelöst. Die Lösung wird mit 250 g Natriumamalgam von 4% in kleinen Portionen versetzt, nach 12stündigem Stehen filtriert und das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert. Die hierbei entstehende ölige Ausscheidung wird mit Äther aufgenommen und der ätherische Auszug über Natriumsulfat getrocknet. Der größte Teil des Äthers wird durch Destillation entfernt, der Rest durch Stehen im Vakuum über Schwefel-

säure. Der zurückbleibende ölige Rückstand erstarrt beim Reiben zu einer nahezu farblosen, krystallinischen Masse. Ausbeute: 24,5 g.

Zur Reinigung wird das Rohprodukt mit 250 ccm Benzol ausgekocht, die Lösung heiß filtriert und der ungelöste Rückstand so oft mit 50 ccm Benzol ausgekocht, bis alles in Lösung gegangen ist. Beim Erkalten krystallisieren 17,8 g eines farblosen Produktes das zur Analyse bei 56° getrocknet wird.

0,1506 g Substanz: 0,3275 g CO_2, 0,0771 g H_2O.
$C_{11}H_{12}O_5$. Ber.: C 58,90, H 5,40.
Gef.: C 59,31, H 5,73.

Die Substanz krystallisiert in großen, unregelmäßig geformten Blättchen, die bei 118,5° (unkorr.) unter Zersetzung schmelzen. Sie ist leicht löslich in kaltem Alkohol, Äther und Essigäther, unlöslich in kaltem Wasser und schwer löslich in kaltem Chloroform und Benzol. In der Wärme ist sie in Benzol und Chloroform leicht löslich. Aus ihrer heißen Lösung in Benzol scheidet sie sich in der Kälte krystallinisch ab.

α-Brom-hydro-anisalmalonsäure.

$CH_3 . O . C_6H_4 . CH_2 . CH(Br) . (COOH)_2$.

24,2 g Hydro-anisalmalonsäure werden in 250 ccm trockenem Äther gelöst und bei zerstreutem Tageslicht mit 7 ccm ($2^1/_5$ Atom) Brom tropfenweise versetzt. Zu Anfang tritt rasche Entfärbung der Flüssigkeit ein, die gegen Ende der Reaktion langsamer wird. Nachdem alles Brom eingetragen ist, wird die ätherische Flüssigkeit $^1/_2$ Stunde sich selbst überlassen, darauf mit Wasser gewaschen, mit schwefliger Säure entfärbt, nochmals mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers hinterbleibt ein öliger Rückstand, der nach 2tägigem Stehen im Vakuum über Schwefelsäure beim Reiben mit einem scharfen Glasstab krystallinisch erstarrt. Ausbeute: 33 g.

Zur Reinigung wird die Substanz in Äther gelöst, die ätherische Lösung mit Benzol versetzt und der Äther abdestilliert. Die benzolische Lösung setzt beim Stehen den Bromkörper in gut ausgebildeten Krystallen ab.

Die Analyse der zuerst im Vakuum über Schwefelsäure und darauf bei 56° getrockneten Substanz gab folgende Zahlen:

0,1494 g Substanz: 0,2398 g CO_2, 0,0551 g H_2O.
0,1478 g Substanz: 0,0920 g AgBr.
$C_{11}H_{11}O_5Br$. Ber.: C 43,56, H 3,66, Br 26,39.
Gef.: C 43,77, H 4,13, Br 26,49.

Die Substanz krystallisiert aus Benzol in vierseitigen, übereinander gelagerten Blättchen, die sich bei 153° (unkorr.) zersetzen. Sie ist in Alkohol, Äther und Essigäther in der Kälte leicht löslich, in Chloroform ist sie in der Kälte schwer löslich, etwas löslich in der Wärme, und in Benzol ist sie auch in der Wärme unlöslich.

p-Methoxy-s-phenyl-α-brompropionsäure.

$CH_3 . O . C_6H_4 . CH_2 . CH(Br) . COOH$.

23,8 g Brom-hydro-anisalmalonsäure werden mit 2 ccm Wasser versetzt und $1^1/_2$ Stunden bei 120 bis 130° im Ölbad erwärmt. Es hinterbleibt ein braunes Öl, das mit 20 ccm Wasser gewaschen und mit Äther aufgenommen wird. Die ätherische Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet und liefert nach Abdestillieren des Äthers ein dickflüssiges braunes Öl, das im Vakuum nicht erstarrt. Ausbeute: 19,2 g.

p-Methoxy-β-phenyl-α-methylamino-propionsäure.

$CH_3 . O . C_6H_4 . CH_2 . CH(NH . CH_3) . COOH$.

19,2 g p-Methoxy-phenyl-α-brompropionsäure werden mit 24,3 ccm 33%igem Methylamin ($3^1/_2$ Mol.) tropfenweise unter Eiskühlung versetzt. Die Lösung wird in einem gut verschlossenen Gefäß 6 Tage bei 37° stehen gelassen. Am dritten Tage beginnt bereits die Krystallisation des Reaktionsproduktes. Am sechsten Tage ist die Masse fast ganz erstarrt. Sie wird scharf abgesaugt und das Filtrat unter Alkoholzusatz wiederholt eingedampft. Ausbeute: 9,5 g.

Zur Reinigung wird die Substanz in 400 ccm heißem Wasser gelöst, die Lösung durch Filtration von geringen Mengen einer amorphen Substanz befreit, mit Tierkohle entfärbt und zur Krystallisation eingedampft. Es werden auf diese Weise 4,1 g Substanz gewonnen. Die Mutterlauge gibt beim weiteren Einengen noch 0,3 g desselben Körpers.

Der Substanz haftet eine bromhaltige Verunreinigung hartnäckig an; deren Entfernung uns trotz wiederholtem Umkrystallisieren nicht gelang. Die Kohlenstoffbestimmungen der bei 95° getrockneten Substanz gaben daher auch stets um etwa 4% zu niedrige, wenn auch bei Präparaten verschiedener Darstellung übereinstimmende Zahlen.

0,1535 g Substanz (Präparat I): 0,3334 g CO_2, 0,0951 g H_2O.
0,1072 „ „ („ II): 0,2323 „ „ 0,0687 „ „
0,2108 „ „ („ I): 11,33 ccm N (18,2°, 754,1 mm).
0,1670 „ „ („ II): 9,19 „ „ (18,1°, 745 „).
$C_{11}H_{15}O_3N$. Ber.: C 63,11, H 7,23, N 6,71.
Gef.: C 59,25, H 6,93, N 6,19 (Präparat I).
C 59,33, H 7,20, N 6,25 („ II).

Der Körper krystallisiert in farblosen Schüppchen, die im zugeschmolzenen Rohr bei 256 bis 257° (unkorr.) unter Gasentwicklung schmelzen. Mit Millons Reagens übergossen, bleiben die Krystalle farblos und lösen sich in der Kälte zu einer anfangs farblosen Flüssigkeit, die allmählich gelblich, dann rotstichig und im Verlauf einiger Minuten tief dunkelrot wird. Das Rot ist nicht rein, sondern etwas braunstichig, eine Farbe, die besonders beim Umschütteln an den Wänden des Reagensglases sichtbar wird. Die Lösung färbt Papier hellbraun.

Mit Diazobenzolsulfosäure[1]) gibt die Substanz zu Anfang Gelbfärbung, die sich ganz langsam zu einem rötlich-gelben Farbenton vertieft. Beim Ansäuern schlägt die Farbe in Gelb um. Die Lösung färbt bei alkalischer Reaktion Filtrierpapier schwach hellbraun, bei saurer Reaktion findet kaum eine Färbung statt.

N-Methyltyrosin.

$OH.C_6H_4.CH_2.CH(NH.CH_3).COOH$.

4 g p-Methoxy-phenyl-α-methylaminopropionsäure werden mit 60 g Bromwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,49) 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Darauf wird die Lösung eingedampft und der größte Teil der Bromwasserstoffsäure durch wiederholtes Abdampfen mit Wasser verjagt. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen, die wässerige Lösung mit Tierkohle

[1]) Herm. Pauly, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 516, 1904.

entfärbt und mit Ammoniak neutralisiert. Dabei fällt das Reaktionsprodukt sofort aus. Seine Menge beträgt 3,1 g. Zur Reinigung wird das Produkt in verdünnter Salzsäure gelöst und durch Neutralisation mit Ammoniak wieder ausgefällt. Unter dem Mikroskop erscheinen die Krystalle (2,3 g) in einer geringen braunen, amorphen Masse eingebettet. Diese bleibt beim Lösen der Krystalle in $^n/_{10}$-Natronlauge zurück. Aus der alkalischen Lösung wird die Substanz durch genaue Neutralisation mit $^n/_{10}$-Schwefelsäure und mehrstündiges Stehen im Eisschrank in farblosen, einheitlichen Krystallen abgeschieden.

Die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz ergab folgende Werte:

0,1500 g Substanz: 0,3348 g CO_2, 0,9938 g H_2O.
0,2003 g Substanz: 12,39 ccm N (16,1°, 745,1 mm).
$C_{10}H_{13}O_3N$. Ber.: C 61,51, H 6,72, N 7,19.
Gef.: C 60,87, H 6,99, N 7,08.

N-Methyltyrosin krystallisiert in Nadeln mit schräg abgestumpften Ecken, die zu Büscheln und Garben vereinigt sind. Sein Zersetzungspunkt liegt scharf bei 318° (unkorr.).

Mit Millons Reagens übergossen, färben sich die Krystalle kirschrot und lösen sich sofort im Reagens zu einer roten Flüssigkeit. Das Rot neigt zu Violett hinüber. Beim Umschütteln fließt die Lösung als rote Flüssigkeit an den Wänden des Reagensglases hinunter. Papier wird von der Lösung bordeauxrot gefärbt.

Mit Diazobenzolsulfosäure gibt die Substanz sofort eine dunkelbraune Farbenreaktion. Die Farbe wird beim Ansäuern mit Essigsäure heller und etwas rotstichiger. Die alkalische Lösung färbt Filtrierpapier rotbraun, die saure Lösung gelbbraun. Die analoge Farbenreaktion des Histidins fällt in alkalischer Lösung rotstichiger aus und schlägt beim Ansäuern in ein reines Orangegelb um. Wird die mit Diazobenzolsulfosäure versetzte Lösung des Histidins auf Filtrierpapier gegossen, so färbt sie dieses in alkalischer Lösung rein orangegelb, in saurer Lösung rein citronengelb.

Wirkung der Säuren und der Alkalien auf das künstliche, hämolytische Kaninchen-Anti-Rinderserum.

Von

Giovanni Moruzzi.

(Aus dem Institut Pasteur zu Paris.)

(Eingegangen am 3. Juli 1910.)

Systematische Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Säuren und Alkalien auf die komplementären Säuren rühren von Noguchi her. Nach Noguchi[1]) kann die Wirkung der durch Säure und Alkali inaktivierten Komplemente bei der Neutralisation gänzlich oder teilweise wieder hergestellt werden. Nach Hecker[2]) inaktivieren größere Säure- und Alkalikonzentrationen dauernd; geringere Alkalikonzentrationen bedingen eine beim Neutralisieren reversible Modifikation (Versuche mit Natronlauge). Pauli[3]) hat bewiesen, daß das HCl und das NaOH sich mit salzfreiem Eiweiß unter der Konzentration 0,05 verbinden; nach dieser Konzentration finden jene Viscositätszunahmen statt, die die Gelatinierung charakterisieren.[4])

---

[1]) H. Noguchi, Über die chemische Inaktivierung und Regeneration der Komplemente. Diese Zeitschr. 6, 1907.

[2]) R. Hecker, Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. Arbeiten aus dem Institut. f. experim. Chem. zu Frankfurt a. M. Heft 3, Jena 1907.

[3]) W. Pauli und Handowsky, Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. Diese Zeitschr. 18, 3., 4. u. 5. Heft, 1909.

[4]) Moruzzi, Untersuchungen über die Gelatinierung des Eiweißes. Diese Zeitschr. 22, 3. Heft, 1909.

In den Konzentrationen von HCl und von NaOH, in denen sich das Acidalbumin und das Alkalialbumin bilden, nimmt die innere Reibung der Flüssigkeit zu, bis sie ein Maximum erreicht, nach dem sie abnimmt.

Auf Grund dieser Untersuchungen nahm ich mir vor, zu erforschen, welche Konzentrationen von Salzsäure und von Natriumhydrat die Inaktivierung des hämolytischen Vermögens der spezifischen Hämolysine verursacht und ob diese Inaktivierung von physikalisch-chemischen Modifikationen des hämolytischen Serums begleitet ist.

Ich zog es vor, die Wirkung des HCl und des NaOH lieber am nicht erwärmten hämolytischen Serum als am komplementären Serum zu studieren, um mich so viel als möglich den Bedingungen zu nähern, unter denen die hämolytischen Sera, wenn sie durch den Einfluß der Temperatur alkalisch werden (L. Michaelis und Rona[1]), das komplementäre Vermögen verlieren.

Nach einer Reihe von Versuchen glückte es mir, die Konzentrationen von HCl und von NaOH festzustellen, die in isotonischen NaCl-Lösungen zu gleichen Teilen dem hämolytischen Serum zugesetzt werden müssen, um die Hämolyse zu verhindern.

Die sauren und alkalischen Mischungen des hämolytischen Serums wurden mit einem gleichen Volumen von roten Blutkörperchen versetzt, 3mal gewaschen und in 5%iger physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwommen.

Das Zeichen 0 bedeutet die nicht erfolgte Hämolyse, das Zeichen + bedeutet schwache Hämolyse, ++ starke, +++ vollständige Hämolyse.

Die bei 37° C in den Brutofen gestellten Mischungen wurden jede Viertelstunde beobachtet. Die Normalitäten der Säure und der Basis beziehen sich auf das hämolytische Serum vor dem Zusatz der Blutkörperchen.

In dem in diesem Versuche gebrauchten Serum verhindert die HCl bis zur Konzentration 0,015 n nicht die Hämolyse; von dieser Konzentration an bis zu der von 0,025 n wird die Hämolyse verhindert, nach 0,025 hat man eine Säurenhämolyse nicht von kirschroter Farbe wie in den Säurekonzentrationen unter 0,015, sondern von brauner Farbe. Mit andern Seris kommt es zur Verhinderung der Hämolyse bei verschiedenen Konzentrationen. Bei drei anderen von mir untersuchten Seren begann die Hämolysenverhinderung bei den Konzentrationen 0,010 n, 0,016 n,

---

[1]) L. Michaelis und P. Rona, Elektrochemische Alkalinitätsmessungen am Blut und Serum. Diese Zeitschr. 18, 3., 4. u. 5. Heft, 1909.

0,017 n. Wenn man 0,5 ccm hämolytisches Serum durch 0,5 ccm Kochsalzlösung ersetzt, so erhält man in allen Mischungen braune Hämolyse; ersetzt man es in den Mischungen (1) (2) (3) durch Kaninchenserum, so erhält man braune Hämolyse, in den nachfolgenden Mischungen tritt keine Hämolyse mehr ein.

Tabelle I.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen							
				Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	5	5	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	"	"	"	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	"	"	"	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,025	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	"	"	"	0	0	0	0	0	0	0	0
0,014	"	"	"	0	0	++	++	++	++	+++	+++
0,013	"	"	"	0	0	++	++	++	++	+++	+++
0,012	"	"	"	0	0	++	++	++	++	+++	+++
0,011	"	"	"	0	0	++	++	++	++	+++	+++
0,010	"	"	"	0	+	++	++	++	++	+++	+++

Wenn man hämolytische Systeme, die verschiedene Mengen Amboceptor und Komplement enthalten, kombiniert, indem man das 1/2 Stunde lang auf 60° C erhitzte hämolytische Serum und das Meerschweinchenserum mit normalem, erhitztem Kaninchenserum verdünnt und daran das Vermögen der Salzsäure studiert, so ergibt sich, daß die Verhinderung der Hämolyse bei um so stärkeren Säurekonzentrationen stattfindet, je größer die Menge von Amboceptor und von Komplement ist. So kann es ein hämolytisches Serum geben, das so aktiv ist, daß es gar nicht dem Einfluß der Säure unterliegt. Für dieses Serum würde sich nach der Konzentration 0,25 n ergeben, daß die roten Blutkörperchen eine doppelte hämolytische Einwirkung erleiden: die der Säure und die der Hämolysine (siehe Tabellen II, III, IV und V).

Tabelle II.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	½ Std. auf 60° C erhitztes hämolytisches Serum ccm	Nicht verdünntes Serum vom Meerschweinchen ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen							
					Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	+++	+++	+++
0,014	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,013	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,012	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle III.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum, ½ Std. erhitzt auf 60° C ccm	Meerschweinchenserum, verdünnt 1/10 ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen							
					Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,014	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,013	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,012	„	„	„	„	0	0	0	0	0	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle IV.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	½ Std. auf 60° C erhitztes, nicht verdünnt. hämolytisches Serum ccm	Kaninchenserum ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,014	„	„	„	„	0	0	0	0	++	++	++	+++
0,013	„	„	„	„	0	0	0	0	++	++	++	+++
0,012	„	„	„	„	0	0	0	0	++	++	++	+++
0,011	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle V.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	¼ Std. auf 60° C erhitztes, 1/10 verdünntes hämolytisches Serum ccm	Kaninchenserum ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,014	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,013	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,012	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,011	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,010	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0

Bei anderen Versuchen, in denen die Verdünnung des Amboceptors und des Komplementes anstatt mit erhitztem Kaninchenserum mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht wurde, erfolgte gleichfalls die Verhinderung der Hämolyse bei Säurekonzentrationen, die um so stärker waren, je größer die Amboceptor- und Komplementmenge war. Da ich wußte, wie rasch das komplementäre Vermögen der Seren abnimmt (Nicolle[1]), machte ich für die vergleichenden Experimente alle Versuche am selben Tage und mit demselben Serum, das von einem mindestens 5 Tage vorher gemachten Aderlaß herstammte; in dieser Zeit bleibt nämlich die komplementäre Kraft fast unveränderlich.

Die Salzsäure zerstört das hämolytische Vermögen nicht, sondern hemmt es nur, denn dieses kann durch die Neutralisation hergestellt werden. Diese Verhinderung kann auf den Amboceptor oder auf das Komplement wirken oder auch auf beide. Deshalb setze ich den aus gleichen Teilen HCl und hämolytischem Serum hergestellten Mischungen gleiche Volumina mit der Hälfte physiologischer Kochsalzlösung verdünntes, normales Kaninchenserum zu. Wie die folgenden Tabellen zeigen, wird das hämolytische Vermögen von der Konzentration 0,010 n an bis 0,025 n wieder hergestellt; mit andern Worten: bei diesem Serum, dem die HCl das hämolytische Vermögen über die Konzentration 0,017 n hinaus entzog indem es die Säurehämolyse nach der Konzentration 0,025 n auslöste, gibt der Zusatz des Komplementes allen Mischungen das hämolytische Vermögen wieder.

Tabelle VI.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Kaninchenserum, verdünnt auf 1/2 mit Kochsalzlösung ccm	Rote Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen							
					Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,50	1	0	0	0	0	0	In allen Mischungen vollständige Hämolyse		
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0			
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0			

[1]) Nicolle und Abt, Les anticorps des alb. et des cellules. Annales de l'Inst. Pasteur 1908.

Tabelle VI (Fortsetzung).

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Kaninchenserum, verdünnt auf 1/2 mit Kochsalzlösung ccm	Rote Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,025	0,25	0,25	0,50	1	0	0	0	0	0	In allen Mischungen vollständige Hämolyse	In allen Mischungen vollständige Hämolyse	In allen Mischungen vollständige Hämolyse
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0			
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	+++			
0,022	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++			
0,021	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++			
0,020	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++			
0,019	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++			
0,018	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++			
0,017	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++			
0,016	„	„	„	„	0	++	+++	+++	+++			
0,015	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++			
0,014	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++			
0,013	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++			
0,012	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++			
0,011	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++			
0,010	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++			

Auch das 1/2 Stunde lang bei 60° erhitzte Serum erstellt das hämolytische Vermögen wieder; die Hämolyse tritt jedoch bei schwächeren Säurekonzentrationen ein.

Tabelle VII.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	1/2 Std. lang bei 60° C erhitztes hämolyt. Serum, verdünnt 1/2 ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,50	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	+++	+++
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	+++	+++
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	+++	+++	+++
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++
0,018	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,017	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,016	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,015	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,014	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,013	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,012	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Auch das $^1/_2$ Stunde lang bei 60° C erhitzte, normale Kaninchenserum stellt das hämolytische Vermögen wieder her, und die Hämolyse findet bei noch schwächeren Säurekonzentrationen statt, als bei den vom erhitzten, hämolytischen Serum erforderlichen.

Tabelle VIII.[1])

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1 % NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Normales Kaninchenserum, $^1/_2$ Std. auf 60° C erhitzt, verdünnt auf $^1/_2$ ccm	Blutkörperchen zu 5 % ccm	Anmerkungen: Nach $^1/_4$ Std.	Nach $^1/_2$ Std.	Nach $^3/_4$ Std.	Nach 1 Std.	Nach $1^1/_4$ Std.	Nach $1^1/_2$ Std.	Nach $1^3/_4$ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,50	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,014	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,013	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,012	„	„	„	„	0	0	0	0	++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	0	0	0	0	++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	0	0	0	++	+++	+++	+++

Das zur Hälfte mit 1 %iger NaCl verdünnte Pferde- und Meerschweinchenserum stellte das hämolytische Vermögen nicht wieder her; nicht verdünnte Sera sind jedoch dazu imstande.

Tabelle IX.[2])

Normalität des Serums	HCl-Lösung in 1 % NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Meerschweinchenserum, $^1/_2$ Std. auf 60° C erhitzt, unverdünnt ccm[3])	Blutkörperchen zu 5 % ccm	Anmerkungen: Nach $^1/_4$ Std.	Nach $^1/_2$ Std.	Nach $^3/_4$ Std.	Nach 1 Std.	Nach $1^1/_4$ Std.	Nach $1^1/_2$ Std.	Nach $1^3/_4$ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,50	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0

[1]) In diesem hämolytischem Serum hemmte die HCl die Hämolyse von der Konzentration 0,010 n an bis zu 0,025 n; durch den Zusatz des Amboceptors wurde das hämolytische Vermögen wieder hergestellt bis einschließlich zur Konzentration 0,012 n. [2]) In dem in diesem und dem folgenden Versuche verwandten hämolytischen Serum verhinderte die HCl die Hämolyse von der Konzentration 0,011 n an bis zu 0,025 n. [3]) S. Fußnote auf S. 506.

Tabelle IX (Fortsetzung.)

Normalität des Serums	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Meerschweinchenserum, 1/2 Std. auf 60° C erhitzt, unverdünnt ccm[1])	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,025	0,25	0,25	0,50	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	9	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	+++
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	+++
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	+++
0,014	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	+++	+++
0,013	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++
0,012	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++
0,011	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++
0,010	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++

Tabelle X.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Pferdeserum, 1/2 Std. auf 60° C erwärmt, nicht verdünnt ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,5	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,016	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,015	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,014	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	+++
0,013	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	+++
0,012	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++
0,011	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++
0,010	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	++	+++

[1]) Das durch die Wärme inaktivierte Kaninchenserum stellte nach 2 Stunden, in der Menge von 0,5 ccm, in allen Mischungen das hämolytische Vermögen wieder her.

Die physiologische NaCl-Lösung hat nicht die Eigenschaft, das hämolytische Vermögen wieder herzustellen. Wenn man dagegen die HCl, anstatt sie dem hämolytischen Serum zuzusetzen, dem Amboceptor oder dem Komplement zufügt, und zuerst das Komplement und dann den Amboceptor zusetzt, so vollzieht sich die Hämolyse in allen beiden Fällen mit denselben Säurekonzentrationen und in der gleichen Zeit.

Tabelle XI.

Normalität der der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolyt. Serum, 1/2 Std. auf 60° R erhitzt ccm	Normales Kaninchenserum, verdünnt 1/2 mit 0,75% NaCl ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen							
					Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,5	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,025	„	„	„	„	0	0						
0,024	„	„	„	„	0	0						
0,023	„	„	„	„	0	0						
0,022	„	„	„	„	0	0						
0,021	„	„	„	„	0	0						
0,020	„	„	„	„	0	0						
0,019	„	„	„	„	0	0						
0,018	„	„	„	„	0	+++						
0,017	„	„	„	„	0	+++						
0,016	„	„	„	„	0	+++						
0,015	„	„	„	„	0	+++						
0,014	„	„	„	„	0	+++						
0,013	„	„	„	„	0	+++						
0,012	„	„	„	„	+++	+++						
0,011	„	„	„	„	+++	+++						
0,010	„	„	„	„	+++	+++						

Hämolyse in allen Mischungen

Die HCl zerstört weder den Amboceptor noch das Komplement, sie löst in dem Serum eine reversible Modifikation aus, die entweder nur das erstere oder nur das andere oder auch beide betrifft. Um festzustellen, ob die Säure durch die Bildung einer Verbindung oder durch ihre alleinige Gegenwart wirkt, dialysierte ich in einem Kollodiumsäckchen das angesäuerte hämolytische Serum in einer isotonischen Lösung von Chlornatrium, um so die Fällung der Blutkörperchen zu verhindern und um die HCl vollständig zu verdrängen.

Wenn man die Flüssigkeit im Dialysierapparat drei oder viermal am Tage erneuert, so gelingt es in ungefähr 2 Tagen alle Säure zu verdrängen. Das Serum verändert sich unter diesen Umständen sehr

gründlich; es besitzt keine hämolytischen Eigenschaften und erwirbt sie auch nicht durch den Zusatz von Amboceptor, wohl aber durch Komplementzusatz. Auch das nicht angesäuerte hämolytische Serum, das mit einem Kollodiumsäckchen in einer isotonischen Lösung von Chlornatrium dialysiert wird, verliert das komplementäre Vermögen.

Tabelle XII.

Normalität der Säure	HCl-Lösung in 1% NaCl ccm	Norm. Kaninch.-Serum ccm	Hämolyt. Serum, 1/2 Std. auf 60° C erhitzt, 1/2 verd. mit 0,75% NaCl ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen							
					Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,25	0,25	0,50	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,040	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,025	„	„	„	„	0	0						
0,024	„	„	„	„	0	0						
0,023	„	„	„	„	0	0						
0,022	„	„	„	„	0	0						
0,021	„	„	„	„	0	0						
0,020	„	„	„	„	0	0						
0,019	„	„	„	„	0	0						
0,018	„	„	„	„	0	+++						
0,017	„	„	„	„	0	+++						
0,016	„	„	„	„	0	+++						
0,015	„	„	„	„	0	+++						
0,014	„	„	„	„	0	+++						
0,013	„	„	„	„	0	+++						
0,012	„	„	„	„	++	+++						
0,011	„	„	„	„	++	+++						
0,010	„	„	„	„	++	+++						

Hämolyse in allen Mischungen

In meinen Untersuchungen über die Wirkung der HCl auf das Eiweiß[1]) habe ich gezeigt, daß die Chloralbuminverbindung sich aus der Konzentration von 0 n bis zu 0,05 n bildet; über dieselbe hinaus treten zuerst Gelatinierungserscheinungen, hernach Fällungserscheinungen auf. Während der Gelatinierung erleidet die eiweißhaltige Salzlösung durch den allmählichen Säurezusatz gar keine Einwirkung, was aus dem parallelen Verlauf des Deltas der eiweißhaltigen Salzlösungen, verglichen mit dem der wässerigen Salzlösungen, bewiesen wird.

Bildet sich dagegen die Fällung (etwa 0,7 n), so erfolgt eine innige Modifikation im molekularen Zusammenhang der Lösung, was dadurch bewiesen wird, daß die Deltawerte der eiweißhaltigen Lösungen, die sich vorher niedriger als die der wässerigen Lösungen gehalten hatten, die letzteren übertreffen. Auf Grundlage dieser Daten unterwarf ich verschiedene hämolytische Sera, die zunehmende Mengen von Salzsäure enthielten, der Dialyse, um zu sehen, ob in einer Konzentration, in der die oben besagte Modifikation erfolgte, sich eine Veränderung des hämo-

[1]) G. Moruzzi, l. c.

lytischen Vermögens betätigt. Die gemachten Versuche bewiesen mir jedoch, daß das hämolytische Serum durch Komplementzusatz seine Eigenschaften bis zu viel höheren Säurekonzentrationen bewahrt (3 n).

In der Dialyse wird also das Komplement entweder zerstört oder von der Membran fixiert oder durchdringt dieselbe. Man kann nicht sagen, ob die HCl eine Verbindung mit dem hämolytischen System bildet, infolge der tiefgehenden Modifikation, die die Dialyse in dem Serum auslöst. Die HCl verhindert den Amboceptor nicht, die roten Blutkörperchen zu sensibilisieren. In der Tat, wenn wir zu 5 ccm 5%iger roter Blutkörperchen 3 ccm angesäuertes, hämolytisches Serum (0,02 n) zufügen und nach $^1/_2$stündigem Kontakt bei 37° C die Blutkörperchen dreimal mit Kochsalzlösung mittels Zentrifugierens waschen, so werden diese Blutkörperchen durch den Zusatz von erhitztem hämolytischem Serum nicht hämolysiert; die Hämolyse erfolgt dagegen bei Vorhandensein von normalem, nicht erwärmtem Serum.

Pauli[1]) hat bewiesen, daß der Zusatz von HCl und von NaOH zu dem dialysierten Serum Viscositätszunahmen veranlaßt, die der Hydratation der eiweißhaltigen Teilchen zuzuschreiben sind. Diese Zunahmen fangen an, sich bei der Konzentration von 0,005 n von HCl und von NaOH bemerkbar zu machen. Beim Experimentieren mit nicht dialysiertem, hämolytischem Serum habe ich nicht vermocht, irgendwelche nennenswerten Modifikationen der Viscosität in den Säurekonzentrationen, bei denen die Hämolyse eintritt, festzustellen, im Vergleich mit denen, bei welchen sie ausbleibt.

Aus den dargestellten Ergebnissen ist es sicher nicht möglich, sich eine klare Idee über den Mechanismus der Einwirkung zu machen, wodurch die HCl die hämolytischen Seren verhindert, die Blutkörperchen zu hämolysieren, und über den, durch den die hämolytischen Seren dies Vermögen wieder gewinnen. Sicherlich handelt es sich nicht um eine Zerstörung weder des Amboceptors noch des Komplements, da die Hämolyse stattfindet, selbst wenn man die HCl direkt dem Amboceptor oder dem Komplemente zufügt. Die Wiederherstellung des hämolytischen Vermögens läßt vermuten, daß es sich um eine reversible Modifikation chemischer oder physikalisch-che-

[1]) Pauli, l. c.

mischer Natur handelt, die durch die Säure im hämolytischen Serum erzeugt wurde. Diese Modifikation kann entweder eine Verbindung der Säure mit dem hämolytischen System sein oder einfach eine Modifikation des Milieus, in dem die Hämolyse zustande kommt.

Die von verschiedenen Forschern [Ferrata[1]), Brand[2])] gemachten Dialyseversuche haben bewiesen, wie großen Einfluß die Beschaffenheit des Milieus auf die hämolytische Erscheinung ausübt. Tatsächlich findet in einem durchaus salzfreien Milieu keine Hämolyse statt; auch in diesem Falle könnte der Anlaß zur Verhinderung der Hämolyse in den Modifikationen liegen, die nicht im Amboceptor und im Komplement, sondern in dem dieselben enthaltenden Milieu erzeugt wurden.

Wie wir gesehen haben, beeinflußt die Amboceptor- und Komplementmenge die zur Verhinderung der Hämolyse notwendige Menge HCl; dies läßt uns eher an eine direkte als an eine indirekte Wirkung der Säure auf das hämolytische System denken. Die Ursache der Reaktivierung des hämolytischen Vermögens ist nicht die Verdünnung, denn der Zusatz der physiologischen NaCl-Lösung stellt die Hämolyse nicht wieder her.

Es scheint nicht, daß die sogenannte Alkalinität der Seren die Ursache der Reaktivierung des hämolytischen Vermögens ist.[3]) „In der Tat, da die einzigen in Blutserum vorhandenen Substanzen, die mit Salzsäure sich verbinden können, Natriumbicarbonat, vielleicht Binatriumphosphat, die Alkaliproteinbestandteile und die Proteine selbst (Immunkörper) sind, so folgt daraus, daß, wenn Säure dem Serum zugesetzt wird, Chlornatrium gebildet, Natriumcarbonat und Binatriumphosphat zerstört und Kohlensäure und Mononatriumphosphat an Menge zunehmen werden. Zu gleicher Zeit wird, wenn die Acidität zunimmt, die Säure Verbindung mit den Proteinen eingehen. Die verschiedenen Prozesse werden nebeneinander, aber keineswegs unabhängig, vor sich gehen." An diesem Punkt, wenn nach dem Zusatz von Salzsäure das Serum hinzugefügt wird, so verschieben das Natriumbicarbonat, das Binatrium-

[1]) A. Ferrata, Die Unwirksamkeit der komplexen Hämolysine in salzfreien Lösungen und ihre Ursache. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 13.

[2]) E. Brand, Über das Verhalten der Komplemente bei der Dialyse. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 34.

[3]) Lawrence, Henderson, Das Gleichgewicht zwischen Basen und Säuren im tierischen Organismus. Ergebnisse der Physiologie 1909.

phosphat die Alkaliproteinbestandteile und die Proteine selbst (Immunkörper), die im hinzugefügten Serum enthalten sind, das Gleichgewicht der Salzsäureverbindungen. Das kann die Aktivierung der hämolytischen Seren durch Serumzusatz erklären.

II.

Die Wirkung der NaOH auf die hämolytischen Seren bietet manche Analogie mit der der HCl. So stellt sich die Verhinderung der Hämolyse im selben Serum fast bei denselben Konzentrationen ein, wie sie die HCl erfordert; die Basenhämolyse tritt bei der gleichen Konzentration ein wie die Säurenhämolyse.

Tabelle XIII.

Normalität der Säure	NaOH-Lösung in 1% NaCl ccm	Hämolytisches Serum ccm	Blutkörperchen zu 5% ccm	Anmerkungen: Nach 1/4 Std.	Nach 1/2 Std.	Nach 3/4 Std.	Nach 1 Std.	Nach 1 1/4 Std.	Nach 1 1/2 Std.	Nach 1 3/4 Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,50	1	+	+	+	+	+	+	+	+
0,050	„	„	„	+	+	+	+	+	+	+	+
0,040	„	„	„	+	+	+	+	+	+	+	+
0,025	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,017	„	„	„	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++
0,016	„	„	„	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++
0,015	„	„	„	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++
0,014	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,013	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,012	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Die dem Serum gleichzeitig zugefügte HCl verhindert die Hämolyse von der Konzentration 0,017 n an bis zu der 0,025 n, weshalb die zur Verhinderung der Hämolyse nötige Konzentrationsdifferenz zwischen Säure und Base von nur $^1/_{1000}$ g Moleküle dargestellt wird. Die Basen- wie auch die Säurenhämolyse stellt sich bei den Mischungen 1, 2 und 3 ein. Auch hier wirkt die in dem Serum enthaltene Amboceptor- und Komplementmenge auf die Quantität von NaOH ein, die nötig ist, um die Hämolyse zu verhindern. Siehe Tabelle.

Tabelle XIV.

Normalität der Säure	NaOH-Lösung in 1% NaCl	½ Stunde auf 60° C erhitztes, hämolytisches Serum	Unverd. Meerschweinchenserum	Blutkörperchen zu 5%	Bemerkungen							
					Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
	ccm	ccm	ccm	ccm								
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,020	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,019	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,018	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,017	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,016	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,015	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,014	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,013	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,012	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle XV.

Normalität der Säure	NaOH-Lösung in 1% NaCl	½ Stunde auf 60° C erhitztes, hämolytisches Serum	Verdünnt. Meerschweinchenserum	Blutkörperchen zu 5%	Bemerkungen							
					Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
	ccm	ccm	ccm	ccm								
0,060	0,50	0,25	0,25	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,016	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,015	„	„	„	„	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++
0,014	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,013	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,012	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle XVI.

Normalität der Säure	NaOH-Lösung in 1% NaCl	½ Stunde auf 60° C erhitztes, unverdünntes, hämolytisches Serum	Kaninchenserum	Blutkörperchen zu 5%	Bemerkungen							
					Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+	+	+	+	+	+	+	
0,050	„	„	„	„								
0,040	„	„	„	„								
0,025	„	„	„	„								
0,024	„	„	„	„								
0,023	„	„	„	„								
0,022	„	„	„	„								
0,021	„	„	„	„								
0,020	„	„	„	„								
0,019	„	„	„	„								
0,018	„	„	„	„								
0,017	„	„	„	„								
0,016	„	„	„	„								
0,015	„	„	„	„								
0,014	„	„	„	„								
0,013	„	„	„	„								
0,012	„	„	„	„								
0,011	„	„	„	„								
0,010	„	„	„	„		+	Hämolyse in allen Mischungen	Hämolyse in allen Mischungen	Hämolyse in allen Mischungen	Hämolyse in allen Mischungen	Hämolyse in allen Mischungen	Hämolyse in allen Mischungen

Tabelle XVII.

Normalität der Säure	NaOH-Lösung in 1% NaCl	½ Stunde auf 60° C erhitztes, hämolytisches Serum um ½ verdünnt	Kaninchenserum	Blutkörperchen zu 5%	Bemerkungen							
					Nach ¼ Std.	Nach ½ Std.	Nach ¾ Std.	Nach 1 Std.	Nach 1¼ Std.	Nach 1½ Std.	Nach 1¾ Std.	Nach 2 Std.
0,060	0,50	0,25	0,25	1	+	+	+	+	+	+	+	+
0,050	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,040	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,025	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,024	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,023	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,022	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,021	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,020	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,019	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,018	„	„	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0,017	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,016	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,015	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,014	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,013	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,012	„	„	„	„	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,011	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,010	„	„	„	„	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Das durch die Wirkung des NaOH verloren gegangene hämolytische Vermögen wird durch Zusatz von erhitztem, hämolytischem Serum, durch normales Kaninchenserum, durch erhitztes Kaninchenserum und durch physiologische NaCl-Lösung wieder hergestellt. Ist das verwandte hämolytische Serum sehr aktiv, wie es das von mir gebrauchte war, so wird die Hämolyse in allen Mischungen wieder hergestellt, weswegen es nicht möglich ist, die Unterschiede des reaktivierenden Vermögens der verschiedenen Seren und der physiologischen Lösung abzuschätzen; sicher ist jedoch, daß der Verdünnungsfaktor, der für die sauren, hämolytischen Seren keine Bedeutung hatte, für die alkalischen hämolytischen in Betracht gezogen werden muß. Wenn man die verschiedene Mengen NaOH enthaltenden, alkalischen, hämolytischen Seren in einer isotonischen Chlornatriumlösung dialysiert, so beobachtet man auch in diesen Seren die Vernichtung des komplementären Vermögens, während der Amboceptor dem Natriumhydrat weit weniger widersteht als der HCl, die bei der NaOH-Konzentration 0,5 n zerstört wird.

Hierbei springt sofort die Analogie ins Auge, die der Antigen-Eiweißstoff mit dem künstlichen Hämolysinantikörper der Wirkung der HCl und dem NaOH gegenüber darbietet.[1])

Das NaOH verhindert den Amboceptor, die roten Blutkörperchen zu sensibilisieren. In der Tat, fügt man zu 3 ccm roten Blutkörperchen 3 ccm alkalisiertes hämolytisches Serum (0,02 n) hinzu und wäscht die Blutkörperchen nach 3stündigem Kontakt bei 37° C 3mal mit einer physiologischen Lösung mittels Zentrifugierens, so werden diese Blutkörperchen durch den Zusatz von erhitztem hämolytischem Serum nicht hämolysiert, wohl aber erfolgt die Hämolyse beim Vorhandensein des nicht erwärmten normalen Serums.

---

[1]) In von mir und Dr. G. Repaci gemeinschaftlich angestellten Versuchen (Le phenomène de Th. Smith realisé par un acidalbumine et un alcolialbume. Compt. rend. des séances de la Société de Biologie, Séance du 5 mars 1910) ist es uns gelungen, mit Sicherheit in Meerschweinchen, die mit aus dialysiertem Pferdeserum gewonnenem Na-Albuminat behandelt worden waren, die anaphylaktischen Erscheinungen zu verhindern; in den Probeeinspritzungen benutzten wir dasselbe Serum, dem das gleiche Volumen an $^2/_{10}$-NaOH zugefügt war.

Es gelang uns nicht, die anaphylaktischen Erscheinungen in mit Chloralbumin behandelten Meerschweinchen zu verhindern, wo wir bei

Wie bei den sauren hämolytischen Seren, beobachtet man bei den alkalischen hämolytischen Seren keine Viscositätszunahme in den Lösungen.

Die Reversibilitätsbedingungen bei der Hämolysenverhinderung durch die Einwirkung der HCl bieten große Analogien mit denen dar, welche die Erscheinung der Komplementablenkung bietet. Daher beabsichtige ich den Einfluß der am leichtesten unter pathologischen Umständen erscheinenden organischen Säuren auf die spezifischen Hämolysine zu studieren.

---

den Probeeinspritzungen dasselbe Serum benutzten, dem wir das gleiche Volumen an $^n/_{10}$-HCl zufügten.

In der kurzen, der Société de Biologie überreichten Mitteilung versprachen wir, überrascht von der beobachteten Erscheinung, unsere Untersuchungen fortzusetzen, um zu sehen, ob man die Smithsche Erscheinung verhindern kann, indem man bei der Probeeinspritzung eine NaOH-Konzentration anwendete, welche die biologischen (therapeutischen) Eigenschaften der Seren intakt ließen.

Carnot und Slavu setzten unsere Untersuchungen fort, und 3 Monate nachher (11. Juni 1910) veröffentlichten sie eine Mitteilung an die Société de Biologie, in der sie nachwiesen, daß bei der Versuchseinspritzung eine stärkere HCl-Konzentration als die von uns benutzte die Smithsche Erscheinung verhindert und dabei die biologische (therapeutische) Eigenschaft der Seren intakt läßt.

Über die Imbibition der Darmschleimhaut mit NaCl- und Na_2SO_4-Lösungen verschiedener Konzentrationen.

Von

G. Quagliariello.

(Aus dem physiologischen Institut der K. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 4. Juli 1910.)

Mit 4 Figuren im Text.

I.

Der Wirkungsmechanismus der abführenden Salze ist noch heutzutage eine strittige Frage. Die alte Lehre Schmiedebergs[1]), Hays[2]), Wallaces und Cushnys[3]) usw., nach der dieser Mechanismus vor allem darin besteht, die Resorption zu verhindern und eine Absonderung der Darmdrüsen herbeizuführen, herrschte noch vor wenigen Jahren unumschränkt.

Im Jahre 1902 bemerkte J. Loeb[4]), als er die Wirkung der Ionen auf die Erregbarkeit der Nerven und Muskeln studierte, daß diejenigen Salze, die die Erregbarkeit erhöhen, auch abführende Salze sind. Damals wies er auf die Möglichkeit hin, daß der Abführungsmechanismus im wesentlichen gerade in der Erhöhung der Erregbarkeit der Nerven und Muskeln des Darmrohres bestände. Wenn die Erregbarkeit erhöht wäre, würde der feste oder flüssige Darminhalt ein genügender Reiz, um starke peristaltische Bewegungen und mithin Defäkation zu verursachen.

Diese durch Analogie auf den unleugbaren experimentellen Beweis der erregenden Wirkung der abführenden Salze auf isolierte Muskeln gegründete Lehre fand Bewunderer und Opponenten.

Die ersteren suchten nachzuweisen, daß es, damit die abführenden Salze ihre Wirksamkeit entfalten, nicht nötig sei, daß sie per os dar-

---

[1]) Schmiedeberg, Arzneimittellehre. Leipzig 1883.

[2]) Hay, Journ. An. and Physiol. 16, 1882; 17, 1883.

[3]) Wallace und Cushny, Amer. Journ. of Physiol. 1, 411, 1898.

[4]) Loeb, Pflügers Arch. 91, 248, 1902.

gereicht werden; dies würde den augenfälligsten experimentellen Beweis dafür liefern, daß die Hinderung der Resorption, wenn sie wirklich vorhanden ist, nur eine sehr sekundäre Bedeutung für den Mechanismus der Einwirkung hat.

Die Opponenten dagegen leugneten zwar nicht, daß diese Salze erregend wirken; wohl aber leugneten sie ihre Wirksamkeit, wenn sie auf anderem Wege als per os dargereicht würden, und zogen deshalb die Schlußfolgerung, daß die Verhinderung der Resorption die hauptsächlichste, wenn nicht die einzige Ursache der abführenden Wirkung sei.

So bewies Mac Callum in einer von 1903 bis 1906 [1]) veröffentlichten Reihe von Abhandlungen, daß die abführenden Salze nicht nur dann wirksam werden, wenn man sie durch den Mund einführt, sondern auch nach intravenösen oder subcutanen Injektionen, oder bei Anwendung auf der peritonealen Fläche des Darmrohres. Der Einwand ist zurückzuweisen, daß diese Salze, gleichviel wie sie dargereicht werden, zum größten Teil durch den Darm ausgeschieden werden und deshalb stets lokal wirken. Ich habe beobachtet, daß die Wirkung schneller eintrat, wenn das Salz direkt ins Blut injiziert, ja in den Magen eingeführt wurde, ein klarer Beweis dafür, daß die Salze, damit sie wirken, zuerst resorbiert werden müssen. Ferner wies er nach, daß diese Salze nicht nur die Peristaltik, sondern auch die Darmabsonderung anregen, und daß das $CaCl_2$ und das $MgCl_2$ die abführende Wirkung hindern, da beide diese Funktionen hemmen. Meltzer und Auer [2]) dagegen gelangten, als sie die Experimente Mac Callums wiederholten, zu der Schlußfolgerung, daß die sogenannten abführenden Salze nur dann ihre Wirksamkeit entfalten, wenn sie per os eingeführt werden.

Brancroft [3]) bestätigte Mac Callums Resultate und bemerkte, um Auers Schlußfolgerungen zu erklären, das von Auer für Purgierung gehaltene Kriterium sei von dem Mac Callums verschieden, der mit Recht unter Purgierung nicht nur die Entleerung von flüssiger, sondern auch von festen Faeces in reichlicherer Menge verstand, als die in derselben Zeit von Kontrolltieren unter den genau identischen experimentellen Bedingungen (abgesehen von der Darreichung des Purgiermittels) entleerten. Diese Kontrolle hatte bei Auers Experimenten gefehlt.

Frankl [4]) bestätigte dann durch seine Experimente die Experimente Auers; er gelangte nämlich zu der Schlußfolgerung, die Beobachtungen Loebs seien nicht anwendbar auf den Wirkungsmechanismus der abführenden Salze, der vielmehr in der alten Lehre Schmiedebergs seine vollständige Erklärung finde.

---

[1]) Mac Callum, On the Mechanism of the physiological Action of the Cathartics. Berkeley 1906, S. 13,

[2]) Meltzer und Auer, Journ. of Physiol. 17, 314, 1906. — Auer, Amer. Journ. of Physiol. 17, 15, 1907.

[3]) Brancroft, Journ. of Biol. Chem. 3, 191, 1907.

[4]) Frankl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57, 386.

Brancroft[1]) aber warf auch Frankl vor, er habe sich nicht nach den experimentellen Normen gerichtet, die unerläßlich sind, wenn man die Wirkung der durch intravenöse und subcutane Injektionen dargereichten abführenden Salze augenfällig nachweisen will.

II.

Aus dem oben Angeführten ergibt sich, daß, obwohl alle Autoren sowohl hinsichtlich der erregenden als hemmenden Wirkung der erwähnten abführenden Salze auf die Darmresorption übereinstimmen, die Frage noch strittig ist, durch welchen dieser beiden Mechanismen die genannten Salze ihre Wirkung entfalten. Andererseits ist es, wenn auch Loebs Theorie durch die spezifische Wirkung der Ionen die erregende Wirkung der Salze sehr gut erklärt, doch noch nicht vollkommen klar, wie die Resorption gehindert wird.

Diesen Teil der Frage zu lösen, war das Ziel meiner Untersuchungen, da ich der Ansicht war, die vollständige Kenntnis dieses Mechanismus könne wenigstens indirekt zur Lösung der so alten Frage beitragen.

In dieser Hinsicht liegen die Untersuchungen Loepers[2]) vor über die Veränderungen, die die Lösungen von abführenden Salzen im Magen erleiden.

Der Autor gelangte zu nachstehender interessanter Schlußfolgerung: Die Salzstoffe von beliebiger Konzentration, die per os eingeführt werden, gelangen in den Darm in einer isotonischen oder der isotonischen sehr nahe stehenden Konzentration. Die Verdünnung der hypertonischen Lösungen erfolgt jedoch nicht mit Wasser, sondern mit Wasser + Natriumchlorid, und die Menge NaCl erscheint proportional nicht nur zur Konzentration, sondern auch zum Molekulargewicht des eingeführten Salzes.

Aus diesen Schlußfolgerungen ergibt sich, daß wir nicht auf gastrischem Wege in den Darm eine Salzlösung von einem von dem der organischen Flüssigkeiten verschiedenen osmotischen Druck einführen können, und damit ist ohne weiteres ausgeschlossen, daß die Hinderung der Darmresorption eine Wirkung der Konzentration des Salzes sein kann.

---

[1]) Brancroft, Arch. f. d. ges. Physiol. 122, 616, 1908.

[2]) Loeper, Compt. rend. Soc. Biol. 58, 1056, 1905.

Wenn ferner die purgierende Wirkung eines Salzes nach Loebs Vorstellungen an die Verminderung des Verhältnisses $\frac{CaCl_2}{NaCl}$ gebunden ist, und wenn die Darreichung des Salzes, ganz gleich, welches es ist, per os in hypertonischen Lösungen die Bereicherung der Salzlösung um ein weiteres Element Na zur Folge hat, das imstande ist, dieses Verhältnis in günstiger Weise zu verschieben, so folgt daraus, daß dieselbe Menge Purgiersalz um so wirksamer sein wird, je mehr in konzentrierter Lösung verabreicht wird, und daß von zwei Salzlösungen, in derselben hypertonischen Konzentration, ceteris paribus, die von größerem Molekulargewicht wirksamer sein wird.

Aber, um von diesen Überlegungen abzusehen, bleibt noch die Tatsache, daß die Hinderung der Resorption durch diese abführenden Salze, nachdem jede physikalische Ursache ausgeschlossen ist, nur eine Wirkung ihrer chemischen Natur sein kann. Die während der letzten Jahre über die Bedeutung der Imbibition bei der Resorption, und namentlich über den spezifischen Einfluß der Ionen auf das Imbibitionsvermögen der Gelatine, des Fibrins und der Krystallinse angestellten Untersuchungen haben mich auf den Gedanken gebracht, daß der Mechanismus, mit dem die abführenden Salze, oder wenigstens einige von ihnen, die Darmresorption hindern, gerade in der Herabsetzung des Imbibitionsvermögens der Mucosa des Darmrohres bestehen könne.

Deshalb suchte ich durch meine Experimente mir Gewißheit zu verschaffen, ob eines der gewöhnlichsten abführenden Salze, das Natriumsulfat, das Vermögen besitzt, die Imbibitionsfähigkeit der Mucosa des Darmrohres herabzusetzen.

III.

Experimentelle Methode.

Hunde von geringem Gewicht (3 bis 5 kg) wurden mit Kalomel purgiert und nach 24 Stunden durch Verblutenlassen getötet.

Unmittelbar nachher wurde ein Darmtrakt, der erste Teil des Dünndarms, entfernt, der auf die bestmögliche Weise vom Mesenterium befreit, außen abgetrocknet und inwendig mit der zum Experiment dienenden Lösung in einer dem Gewicht des Darmes annähernd proportionalen Menge abgewaschen wurde.

Ein kleines Stück des so behandelten Darms wurde in einen Filtermesser mit vorher abgewogenem geschmergeltem Pfropfen gebracht; hierauf wurde der trockene Rückstand bestimmt.

Der Rest der Darmschleife wurde in zwei gleiche Stücke geteilt, von denen ein jedes an einem Ende zugeknüpft und in einem zylindrischen Gefäß hängend (dessen geschmergelter Pfropfen an seiner unteren Fläche einen ebenfalls gläsernen Haken hatte) gewogen wurde. Unmittelbar darauf wurde in jedes Stück eine gewisse Menge der zu prüfenden Lösung gebracht, die ungefähr dem Gewicht des Darmstückes gleich war; dann wurden die Gefäße mit der mit Flüssigkeit gefüllten und an allen ihren Enden an dem erwähnten Haken aufgehängten Darmschleife wieder gewogen und in einen Thermostaten bei 37° C gebracht.

Nach 1 Stunde oder nach 2 Stunden wurden die Gefäße einzeln aus dem Thermostaten herausgenommen. Ich durchschnitt die Darmschleife genau in der Mitte und wartete, nachdem ich das Gefäß wieder eingeschlossen hatte, 5 Minuten, bis die Flüssigkeit durchfiltriert war; nach deren Verlauf nahm ich die Schleife aus dem Gefäß, bestimmte an einem kleinen Stück derselben den trockenen Rückstand und wog das Gefäß mit der Extraktionsflüssigkeit wieder.

Da ich das Gewicht der eingeführten Flüssigkeit und das der nach 1 oder 2 Stunden extrahierten Flüssigkeit kannte, berechnete ich die Differenz in + oder — je auf 100 g des Darmes.

Andererseits ermöglichte mir die Bestimmung des trockenen Rückstandes des normalen Intestinums nach 1 oder 2stündigem Verweilen im Thermostaten dieselben Schwankungen auf anderem Wege zu berechnen.

Diese Methode ist gewiß nichts weniger als genau, aber doch wieder die einzige, die bei derartigen Untersuchungen dem Zweck entsprechen kann.

Gewiß geben häufig Veranlassung zu Irrtümern die sogar im Aussehen sich kundgebenden Unterschiede zwischen dem Darm der verschiedenen Tiere und den verschiedenen Darmabschnitten desselben Tieres. Diesem Übelstand suchte ich in einer zweiten Reihe von Untersuchungen abzuhelfen, über die ich noch berichten werde.

Eine andere Quelle des Irrtums besteht darin, daß namentlich die hypertonischen Lösungen aus dem Darm eine zuweilen wahrhaft beträchtliche Menge Eiweißmaterial (Zellen, Saft usw.) extrahieren, was dann schwere Irrtümer hinsichtlich des Gewichts der extrahierten Flüssigkeit veranlaßt. Diesen Übelstand suchte ich auf folgende Weise zu vermeiden: Nachdem ich das Gefäß mit der Extraktionsflüssigkeit gewogen hatte, wurde die letztere sehr leicht angesäuert und gekocht, dann auf einem vorher befeuchteten und gewogenen Filter filtriert; das auf dem Filter zurückgebliebene Coagulum wurde noch feucht gewogen, und dieses Gewicht wurde von dem der Extraktionsflüssigkeit abgezogen. So bleibt nur der unvermeidliche Irrtum des Abwiegens des feuchten Rückstandes.

Eine weitere Ursache des Irrtums ist in der Abwaschung des Darmes zu suchen (die übrigens unerläßlich ist, sowohl wegen der Ausscheidung der Resorption, die wahrscheinlich in einem Organ ohne Zirkulation augenblicklich erfolgt, als auch, weil trotz der Darreichung des Kalomel der Darm nicht immer leer war). Denn wenn ich mich auch noch so sehr bemühte, die Flüssigkeit in einer dem Gewicht des Darmes stets proportionalen Menge zu verwenden und sie immer mit demselben Druck und mit derselben Geschwindigkeit hindurchfließen zu lassen, so konnte doch die Menge der vom Darmrohr resorbierten Flüssigkeit mit einer Menge äußerer Faktoren (Temperatur des Darmrohres und Grad seiner Kontraktion, Grad der Anämie usw.) schwanken.

Auch lieferte die Extrahierung der Flüssigkeit der Darmschleife kein genaueres Resultat, weil auch nicht anzunehmen ist, daß der Darm sich jedesmal in demselben Grade entleert hatte, mochte nun die Flüssigkeit ausgedrückt oder einen bestimmten Zeitabschnitt hindurch spontan filtriert werden, wie es bei meinen Experimenten geschah.

Dies alles hindert jedoch nicht, daß das übereinstimmende Resultat von zwei oder drei Experimenten von derselben Natur seine Bedeutung beibehält. Ich hielt es nur für notwendig, auf alle Irrtümer der bei den Experimenten befolgten Methode hinzuweisen, um zu zeigen, daß ich, da sie mir bekannt sind, nicht behaupten will, ich habe die Art des Verlaufes der Imbibition der Darmmucosa durch verschieden konzentrierte Natriumchlorid- und Natriumsulfatlösungen genau bestimmt; ich habe diesen Verlauf nur in seinen allgemeinen Grundzügen dargestellt.

Nachdem ich dies vorausgeschickt habe, berichte ich ohne weiteres über die Experimente, indem ich es unterlasse, sie im einzelnen zu beschreiben, da sie alle nach derselben oben geschilderten Methode durchgeführt wurden; ihre Resultate sind summarisch in den Tabellen I und II zusammengestellt.

In Tabelle I sind die Daten verzeichnet, die sich auf die Gewichtszunahme des Darms nach 1 und 2stündiger Durchtränkung mit destilliertem Wasser und mit verschieden konzentrierten NaCl- und Na_2SO_4-Lösungen beziehen.

Tabelle II enthält die Daten, die sich auf den Wassergehalt des normalen Darmrohres und nach Durchtränkungen mit den erwähnten Salzlösungen beziehen.

Ein Blick auf jede der beiden Tabellen (I u. II) zeigt sofort eine Unregelmäßigkeit in den Zahlen, die sich auf die Imbibition nach verschiedenem Zeitintervall beziehen; diese Unregelmäßigkeit läßt sich schwer anders erklären als entweder durch Irrtümer bei der Bestimmung oder durch wirklich bedeutende Schwankungen zwischen den Eigenschaften der verschiedenen Darmstücke.

Tabelle I.

Prozentuale Gewichtsveränderungen des Intestinum.

Versuch Nr.	Imbibition mit NaCl		
	Gramm Äquiv.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
7	0	+ 24,8	+ 18,1
10	0,02	+ 8,61	+ 17,5
9	0,1	+ 8,1	+ 10,2
2	0,25	+ 7,46	+ 16,5
4	0,5	+ 4,6	+ 0,79
5	1	+ 5,5	+ 4,1
Versuch Nr.	**Imbibition mit Na_2SO_4**		
	Gramm Äquiv.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
7	0	+ 24,8	+ 18,1
11	0,02	+ 10,9	+ 11,1
8	0,1	+ 9,4	—
1	0,25	+ 10	+ 4,8
3	0,5	+ 5,8	+ 10,6
6	1	— 1	+ 0,08
12	1	— 2,1	— 1,4

Tabelle II.

Wassergehalt des Intestinum in %.

Versuch Nr.	Imbibition mit NaCl			
	Intestinum normal	Konzentration der Lösg.: Gramm Äq.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
10	79,7	0,02	85	84,2
9	79,4	0,1	84,1	83,2
2	—	0,25	74,3	76
4	76	0,5	78,9	76,3
5	78	1	80	79
Versuch Nr.	**Imbibition mit Na_2SO_4**			
	Intestinum normal	Konzentration der Lösg.: Gramm Äq.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
11	81,6	0,02	83,1	83,4
8	—	0,1	82,8	82,8
1	75,6	0,25	79	76,8
3	78,5	0,5	79	81,3
6	78,6	1	76,9	78
12	78,2	1	76,7	75,7

Aber aus der Vergleichung der Daten der Tabellen I und II ergibt sich klar, daß die erwähnten Unregelmäßigkeiten sich wenigstens qualitativ, wenn nicht quantitativ, wiederholen, sowohl wenn die Gewichtszunahme des frischen Darms, als auch wenn sein trockener Rückstand bestimmt wird, so daß man

sich ohne weiteres dafür entscheidet, der zweiten Hypothese die größte Bedeutung beizulegen. Wenn es aber möglich ist, so wichtige Unterschiede zwischen anstoßenden Darmstücken desselben Tieres zu finden, welche werden dann wohl zwischen den Därmen verschiedener Tiere bestehen?

Durch diesen Gedanken geleitet, begann ich eine zweite Reihe von Untersuchungen, bei denen ich parallel an anstoßenden Stücken desselben Darms mit äquimolekularen NaCl- und Na_2SO_4-Lösungen experimentierte. Auf diese Weise glaubte ich meine Aufgabe noch einfacher zu gestalten, da sie sich darauf beschränkte, zu bestimmen, ob Natriumsulfat in verschiedenen Konzentrationen die Durchtränkung der Darmmucosa hindert oder begünstigt, wenn als Ausdruck des Vergleiches die Durchtränkung genommen wird, die ein anderes Darmstück desselben Tieres unter denselben experimentellen Bedingungen, also annähernd mit denselben Irrtümern berechnet, in einer äquimolekularen NaCl-Lösung erfährt.

Tabelle III.

Prozentuale Gewichtsveränderungen des Intestinum.

Versuch Nr.	Imbibition mit NaCl	
	Gramm Äquiv.	nach 1 Stunde
13	0	+ 19,1
14	0,05	+ 10,1
15	0,154	+ 6,7
16	0,2	+ 5,5
17	0,25	+ 7,8
18	0,25	+ 4,7
19	0,5	+ 5,2
20	0,75	+ 5,1
21	1	+ 5
Versuch Nr.	Imbibition mit Na_2SO_4	
	Gramm Äquiv.	nach 1 Stunde
13	0	+ 19,1
14	0,05	+ 11,2
15	0,154	+ 10,9
16	0,2	+ 16,7
17	0,25	+ 12,1
18	0,25	—
19	0,5	+ 4,5
20	0,75	+ 1,3
21	1	— 7,3

Bei dieser zweiten Reihe von Untersuchungen war die Technik die gleiche wie die schon früher beschriebene, abge-

gesehen von unumgänglichen kleinen Veränderungen, wie die Abwaschung des Darms, weil natürlich jedes Stück mit der Lösung abgewaschen wurde, mit der ich gerade experimentierte. Ferner wurden bei dieser zweiten Reihe die Gewichtszunahme nach der 2. Stunde und der trockene Rückstand nicht berücksichtigt.

In Tabelle III führe ich direkt die Resultate dieser Experimente an.

Wie man sieht, unterscheiden sie sich nicht wesentlich von den sowohl in Tabelle I als in Tabelle II mitgeteilten.

Dies beweist, daß ungeachtet der nicht kleinen Irrtümer der experimentellen Methode der allgemeine Verlauf der Erscheinung wirklich der ist, den die erhaltenen Zahlen zeigen, und daß auf Grund dieser Zahlen eine allgemeine Erörterung möglich ist.

Um diese zu erleichtern, vereinige ich in Tabelle IV die bei der ersten und zweiten Reihe von Experimenten erhaltenen Werte, die sich auf die Gewichtszunahme des Darms beziehen,

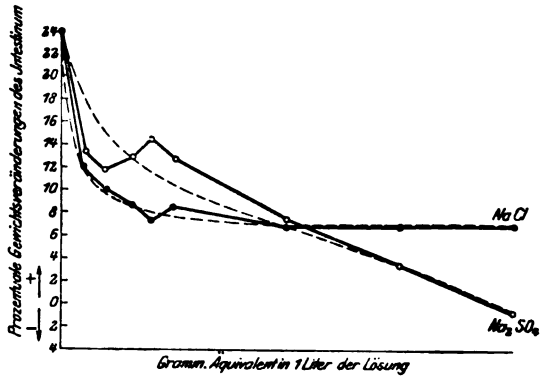


Fig. 1.

indem ich sie nach der Konzentration der verwendeten Lösung ordne und bei den Konzentrationen, mit denen mehr als ein Experiment ausgeführt wurde, das Mittel nehme. Diese selben Werte sind sodann in Fig. 1 graphisch dargestellt; auf der Abszissenachse sind die Konzentrationen des NaCl und des Na_2SO_4 verzeichnet, auf der Ordinatenachse die prozentischen Schwankungen des Darmgewichtes.

Tabelle IV.

Mittelwerte der prozentualen Gewichtsveränderungen des Intestinum nach 1 Stunde der Imbibition bei 37° C.

Mit NaCl	Gramm Äquiv.	Mit Na_2SO_4
+ 21,9	0	+ 21,9
+ 8,61	0,02	+ 10,9
+ 10,1	0,05	+ 11,2
+ 8,1	0,1	+ 9,4
+ 6,7	0,154	+ 10,9
+ 5,5	0,2	+ 12,4
+ 6,6	0,25	+ 11
+ 4,9	0,5	+ 5,1
+ 5,1	0,75	+ 1,3
+ 5,2	1	− 3,1

Die wichtigste Erscheinung, die aus der Figur zu entnehmen ist (und sie ergibt sich gleichmäßig aus allen Tabellen, wobei auch die zweite nicht ausgeschlossen ist, die sich auf den trockenen Rückstand bezieht), besteht darin, daß das Natriumsulfat bis zu einer gewissen Konzentration (ca. 0,5 μ) eine weniger intensive herabdrückende Wirkung auf die Imbibition der Darmmucosa ausübt als das Natriumchlorid. Jenseits dieser Konzentration wird seine Wirkung wahrhaft energisch und viel wirksamer als die des Chlorids, so daß es möglich ist, mit dem Sulfat einen Wasserverlust von seiten des Darms zu erhalten, der mit dem Natriumchlorid nie eintritt.

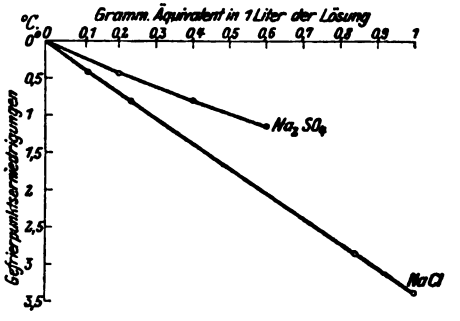


Fig. 2.

Dies ist gewiß auffallend und hat mich auf den Gedanken gebracht, es könne in Beziehung zum Grad der Dissoziation der beiden Salze stehen.

Das Natriumchlorid hat nämlich einen etwas größeren Grad der Dissoziation als das Sulfat, so daß vom Gesichtspunkt des osmotischen Druckes aus äquivalente Lösungen der beiden Salze nicht gleichwertig sind, sondern die des Chlorids sicher einen größeren Druck hat.

Dieser Unterschied ergibt sich aus Fig. 2, in der die Werte der Gefrierpunkterniedrigung des destillierten Wassers mit Hilfe der beiden Salze graphisch dargestellt sind. Die Werte sind den Tabellen Landots entnommen. Für das Natriumsulfat gehen diese Werte nicht über die Konzentration von 0,6 g äquiv. hinaus, weil jenseits dieser Konzentration bei 0° C das Salz sich niederschlägt.

Ferner habe ich die graphische Linie Nr. 3 konstruiert, auf der ich auf der Abszissenachse vor der Konzentration der Salze die Erniedrigung des Gefrierpunktes verzeichnet habe, so daß isoosmotische Lösungen miteinander verglichen werden.

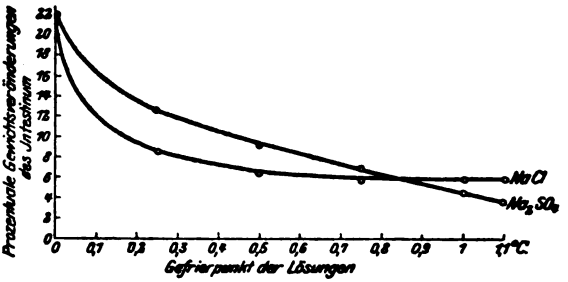


Fig. 3.

Zur Einschaltung in die graphische Linie 2 habe ich die Konzentration entnommen, bei denen das Natriumchlorid resp. -sulfat eine Erniedrigung des Gefrierpunktes gleich 0,25°, 0,75°, 1°, 1,1° C veranlaßt, und ich habe die folgenden Werte gefunden:

$\Delta = 0{,}25°$ C	NaCl	0,71 g	äquiv.	Na_2SO_4	0,11 g äquiv.
$\Delta = 0{,}5°$ „	„	0,15 g	„	„	0,22 g „
$\Delta = 0{,}75°$ „	„	0,22 g	„	„	0,31 g „
$\Delta = 1°$ „	„	0,29 g	„	„	0,5 g „
$\Delta = 1{,}1°$ „	„	0,32 g	„	„	0,6 g „

Sodann berechnete ich den Grad der Imbibition der Darmmucosa infolge der erwähnten Konzentrationen der beiden Salze, und auch diese Werte entnahm ich durch Einschaltung aus der graphischen Linie I, aber nachdem ich sie korrigiert hatte, wie es die schraffierten Kurven zeigen; denn es ist wahrscheinlich, daß die letzteren wirklich den allgemeinen Verlauf der Erscheinung darstellen. Denn wenn die Stellen für

das Natriumsulfat sich ziemlich von der Kurve entfernen, so muß dies den experimentellen Irrtümern zur Last gelegt werden, über deren Größe ich schon gesprochen habe.

Nun unterscheidet sich aber die graphische Linie 3 nicht wesentlich von der ersten; auch hier setzt das Natriumsulfat zunächst die Imbibition schwächer herab als das Chlorid und dann energischer, so daß die beiden Linien sich kreuzen.

(Der zweite Teil der Erscheinung, nämlich die Disimbibition durch Einwirkung des Sulfats, zeigt sich in dieser graphischen Linie nicht, weil sie für das Chlorid bei der Konzentration von 0,32 g äquiv. zum Stillstand kommt und beim Natriumsulfat bei der Konzentration von 0,6 g äquiv., und zwar infolge der erwähnten Grenze der Löslichkeit dieses Salzes.)

Der einzige Unterschied zwischen den graphischen Linien 1 und 3 besteht darin, daß beim Vergleich isotonischer Lösungen der beiden Salze die größere Wirksamkeit des Chlorids bis zu einer gewissen Konzentration, dem Sulfat gegenüber, in Wirklichkeit viel geringer erscheint als sie war, als äquivalente Lösungen nur hinsichtlich der Zahl der gelösten Grammoleküle verglichen wurden.

Aber die Erscheinung besteht unzweifelhaft, und da es ausgeschlossen ist, daß sie durch den verschiedenen osmotischen Druck von äquivalenten NaCl- und Na_2SO_4-Lösungen verursacht sein kann, so ist es wahrscheinlich, daß sie von der Armut des Darmrohrs an Sulfaten abhängt, infolge deren eine Lösung eines Salzes mit solchen Anionen viel leichter im Darmrohr diffundiert als eine Lösung eines Chlorids, die schon ziemlich reichlich im Intestinum vorhanden ist. Dies gilt, solange die hemmende Wirkung auf die Imbibition des Sulfations wegen seiner geringen Konzentration noch schwach ist; erreicht letztere aber einen gewissen Grad, so verschwindet auch die Diffusion, was logisch ist, wenn man bedenkt, daß eine Diffusion ohne vorhergehende Imbibition nicht möglich ist.

Wie dem auch sein mag, meine Experimente führen zu der Schlußfolgerung, daß das Sulfation bis zu einer gewissen Konzentration die Imbibition der Darmmucosa weniger herabsetzt als das Chlorion, und daß jenseits dieser Konzentration seine herabsetzende Wirkung wahrhaft energisch und weit höher als die des Chlorions wird.

Diese Art des Verhaltens der Darmmucosa stimmt übrigens im wesentlichen überein mit der Art des Verhaltens der Resorption, die Carnot und Amet[1]) an Darmschleifen konstatiert haben, die sie lebenden Tieren entnommen hatten. Sie erhielten für isoosmotische Lösungen (Δ schwankend von 0,67 bis 1,02° C) von Na_2SO_4 und NaCl die folgenden Resultate:

NaCl.

Δ	In die Darmschleife eingeführte Flüssigkeit ccm	Extrakt ccm
0,68° C	20	10
0,98° „	20	13
1° „	20	5,5

Na_2SO_4.

Δ	In die Schleife eingeführte Flüssigkeit ccm	Extrakt ccm
0,68° C	20	19
0,98° „	20	32
1° „	20	35

Daraus ergibt sich, wie aus meinen Untersuchungen, daß das Natriumsulfat nur in hoher Konzentration imstande ist einen wahren Wasserverlust zu verursachen, wo das Natriumchlorid auch in hypertonischer Lösung resorbiert wird.

Nun besteht aber die wichtige Frage hinsichtlich des Purgiermechanismus des Natriumsulfats in folgendem: Kann dieses Salz, auch wenn es in hohen Konzentrationen dargereicht wird, im Darmrohr die Konzentration erreichen, die, wie meine Experimente beweisen, genügt, um die Imbibition und mithin die Resorption merklich zu hindern?

Nach den erwähnten Untersuchungen Loepers könnte es scheinen, als ob jede salzige Substanz, wie sie auch auf gastrischem Wege dargereicht wird, in einer der isotonischen sehr nahe kommenden Konzentration in das Darmrohr gelangt. Nehmen wir als der inneren Umgebung isotonische Lösung die 0,154 g äquiv. NaCl-Lösung, so finden wir, daß sie ungefähr einer 0,23 g Na_2SO_4-Lösung isoosmotisch ist. Nun ergibt sich

[1]) Carnot und Amet, Compt. rend. Soc. Biol. 56, 722, 1904; 58, 1072, 1905.

aber aus Figur 1, daß in dieser Konzentration das Sulfation noch ein zu schwaches Hemmnis der Imbibition ist, als daß man sich auf diesen Mechanismus als Ursache der nicht stattgefundenen Resorption berufen könnte.

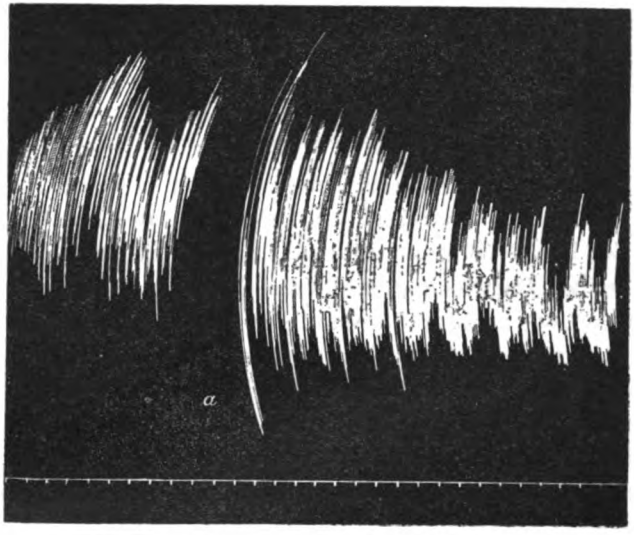


Fig. 4.

Dies heißt übrigens nicht, daß das Natriumsulfat nicht fast ganz resorbiert wird; nur ist die Ursache in einem anderen Mechanismus zu suchen. Und diese Ursache liegt wahrscheinlich in der spezifischen erregenden Einwirkung des Sulfations. Mit anderen Worten, wenn das Natriumsulfat nicht in erheblichem Maße resorbiert wird, so hängt dies wahrscheinlich davon ab, daß, wenn seine ersten Spuren resorbiert sind (da sie das Calcium in einer weniger löslichen und weniger trennbaren Verbindung binden), sie eine energische Peristaltik des Darms veranlassen, mithin ein Fortschreiten der Flüssigkeit und der in ihm enthaltenen Materialien, ein rasches Fortschreiten verhindern, weil sich die peristaltische Erregung fortpflanzt, was die nicht stattgefundene Resorption des Salzes und die abführende Wirkung erklärt.

Daß die erregende Wirkung des Sulfations eine intensive ist, auch wenn es in geringer Konzentration auf die Darmmucosa einwirkt, wird durch die dargestellte Kurve, Fig. 4, er-

wiesen, die von einem in Ringersche Flüssigkeit eingetauchten Stück eines Katzendarms bei 37° C erhalten wurde.

Entsprechend dem Zeichen *a* wurden in das Darmlumen wenige Kubikzentimeter einer 0,154 g äquiv. Na_2SO_4-Lösung eingeführt.

Die Darmbewegungen wurden schnell und beträchtlich umfangreicher und häufiger.

Zusammenfassung.

Da es nach Loepers Untersuchungen ausgeschlossen ist, daß die nicht stattgefundene Resorption des Natriumsulfats von der hohen Konzentration abhängen kann, die dieses Salz nach seiner Darreichung gewöhnlich erreicht; da nach meinen Untersuchungen ausgeschlossen ist, daß sie das Ergebnis der hemmenden Einwirkung des Sulfations auf die Imbibition sein kann, so scheint es klar, daß sie ein sekundäres Ergebnis der erregenden Wirkung des Sulfations ist; deshalb muß man in der spezifischen Wirkung der Ionen auf die Muskelfasern des Darmrohrs den abführenden Mechanismus des Natriumsulfats erkennen.

Berichtigung zu der Arbeit:

Bestimmung von Ammoniak und Harnstoff im Blut.

Von

C. G. L. Wolf und Mc Kim Marriot.

(Bd. 26, S. 165.)

S. 167 Zeile 27 von oben muß es heißen:

$^n/_{50}$-kohlensäurefreier Natronlauge

statt

$^n/_{50}$-ätzalkalifreiem Natriumcarbonat.

Autorenverzeichnis.

Berg, Ragnar. Über den Mechanismus der Beeinflussung der körperlichen Entwicklung durch die Wasserhärte. S. 204.

Braunstein, A. und L. Kepinow. Weitere Untersuchungen über das Wesen der Antitrypsinbildung im Organismus. S. 170.

Buchner, Eduard und Hugo Haehn. Studien über den Phosphorgehalt der Hefe und einiger Hefepräparate. S. 418.

Caspari, W. und A. Loewy. Über den Einfluß gesteigerter Körpertemperatur auf das Verhalten der Blutgase. S. 405.

Embden, Gustav und Joseph Wirth. Über Hemmung der Acetessigsäurebildung in der Leber. S. 1.

Fischer, H. W. Das negative Eisenhydroxyd. I. S. 223.

— — Das negative Eisenhydroxyd. II. S. 238.

— — und Erich Kuznitzky. Über negatives Eisenhydroxyd. III. S. 311.

Friedmann, E. Zur Technik der Durchströmung überlebender Organe. S. 87.

— — Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. XI. S. 119.

— — und S. Gutmann. Über die N-Methylderivate des Phenylalanins und des Tyrosins. S. 491.

— — und C. Maase. Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. IX. S. 97.

— — Desgl. X. S. 113.

— — Desgl. XII. S. 474.

Glimm, E. siehe Wohl und Glimm.

Griesbach, Walter. Über Acetessigsäurebildung in der Leber diabetischer Hunde. S. 34.

Gutmann, S. siehe Friedmann und Gutmann.

Haehn, Hugo siehe Buchner und Haehn.

Hasselbalch, K. A. und J. Lindhard. Eine neue Methode zur Bestimmung des Zuckers im Harn. S. 273.

Hirata, Goichi. Über die Mengenverhältnisse der Diastase in den einzelnen Organen verschiedener Tierarten. S. 385.

— — Über die Beziehungen zwischen dem Antitrypsingehalt des Blutes und dem des Urins. S. 397.

Hirschberg, Else siehe Neuberg und Hirschberg.

Kepinow, L. siehe Braunstein und Kepinow.

Kochmann, Martin. Zur Kenntnis des Kalkstoffwechsels unter Berücksichtigung des Stoffwechsels der Phosphorsäure und der Magnesia. Vorläufige Mitteilung. S. 85.

Kondo, Kenro, Zur Kenntnis des Essigätherextraktes der Organe und seines Verhaltens bei der Autolyse. IV. S. 427.

— — Desgl. V. S. 436.

Kostytschew, S. Zur Richtigstellung! S. 326.

Kuznitzky, Erich siehe Fischer und Kuznitzky.

Lindhard, J. siehe Hasselbalch und Lindhard.

Loeb, Jacques. Über die Hemmung der zerstörenden Wirkung neutraler Salzlösungen auf das befruchtete Ei mittels Cyankalium. S. 304.

Loewy, A. siehe Caspari und Loewy.

Maase, C. siehe Friedmann und Maase.

PERIODICAL

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE STAMPED BELOW

RENEWED BOOKS ARE SUBJECT TO IMMEDIATE RECALL

Marchl
Chloro
Mayerh
Stein
Zucker
scher
Michae
Rona.
Eiweiß
Moruzz
der Sä
das
Kanin
S. 498.
Mursch
Einflu
lung d
die Re
versuc
und O
Regna
S. 147.
Neuber
an Jod
— — C
durch
gang v
säure i
— — u
Über di
bindun
wichtig
— — —
Kohlen
Palladi
chromo
der We
Pauli, W
innere
lösunge
Porges,
torische
schaltu
S. 131.
— und H. Salomon. Über den respiratorischen Quotienten pankreasdiabetischer Hunde nach

dominal-
die Im-
haut mit
ösungen
rationen.
ski und
Experi-
n über
der Dar-
atischen
reatinin-
Rona.
Chemis-
h Leber.
es und
ber den
nicaten
die Be-
e quan-
mung.
erhofer
d Wag-
leutral-
l seine
aktion
er Pro-
n Ab-
Leber.
irth.
. Zur
ptase).
Zaleski, W. und A. Reinhard. Zur Frage der Wirkung der Salze auf die Atmung der Pflanzen und auf die Atmungsenzyme. S. 450.

Library, University of California, Davis
Series 458A

61878
Biochemische zeitschrift.
QP501
B54
v.27
SEP 1 1 1963

Biochemische zeitschrift
QP501
B54
v.27

PERIODICAL
61878

PAGE NOT AVAILABLE